

107528659

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際公開番号

Rec'd PCT/PTO 22 MAR 2005

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004 年 4 月 8 日 (08.04.2004)

PCT

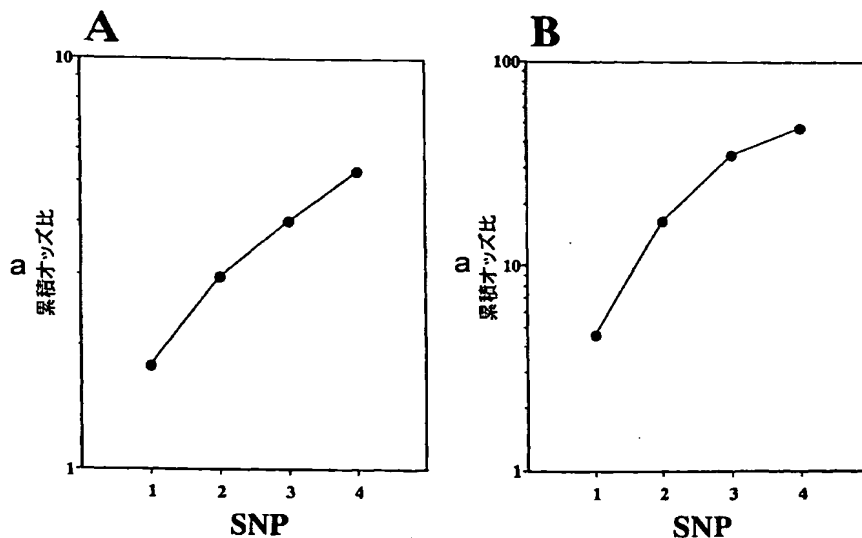
(10) 国際公開番号
WO 2004/029243 A1

- (51) 国際特許分類⁷: C12N 15/09, C12Q 1/68
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2003/012052
- (22) 国際出願日: 2003 年 9 月 22 日 (22.09.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2002-280034 2002 年 9 月 25 日 (25.09.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 財団法人名古屋産業科学研究所 (NAGOYA INDUSTRIAL SCIENCE RESEARCH INSTITUTE) [JP/JP]; 〒460-0008 愛知県名古屋市 中区栄二丁目10番19号 Aichi (JP). 財団法人岐阜県国際バイオ研究所 (GIFU INTERNATIONAL INSTITUTE OF BIOTECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒504-0838 岐阜県 各務原市 那加不動丘1丁目1番地 Gifu (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 山田 芳司 (YAMADA, Yoshiji) [JP/JP]; 〒458-0013 愛知県 名古屋市 緑区ほら貝2-82-3 グローリアス緑区ほら貝702号 Aichi (JP). 横田 充弘 (YOKOTA, Mitsuhiro) [JP/JP]; 〒458-0812 愛知県 名古屋市 緑区神の倉3-98 Aichi (JP).
- (74) 代理人: 小西 富雅, 外 (KONISHI, Tomimasa et al.); 〒460-0002 愛知県 名古屋市 中区丸の内二丁目17番12号 丸の内エスレートビル7階 Aichi (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

/続葉有/

(54) Title: METHOD OF PREDICTING GENETIC RISK FOR HYPERTENSION

(54) 発明の名称: 高血圧のリスク診断方法



a... CUMULATIVE ODDS RATIO

(57) Abstract: It is intended to provide a means of predicting genetic risk for hypertension at a high accuracy and a high prediction possibility. Namely, risk for hypertension is predicted by a method involving the following steps: (i) the step of analyzing two or more polymorphisms selected from among 4 gene polymorphisms having been revealed as relating to hypertension; (ii) the step of determining the genotype of a nucleic acid sample based on the polymorphism data obtained in the above step; and (iii) the step of predicting the genetic risk for hypertension from the genotype thus determined.

/続葉有/

WO 2004/029243 A1



(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約: 高精度で予測確率の高い高血圧の遺伝的リスクを診断する手段を提供する。以下の工程を含んでなる方法により高血圧のリスク診断を行う。(i)高血圧との関連が認められた4個の遺伝子多型より選択される二つ以上の多型を解析する工程、(ii)前記工程によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び(iii)決定された遺伝子型から高血圧の遺伝的リスクを求める工程。

明 細 書

高血圧のリスク診断方法

5 技術分野

本発明は高血圧に関連する遺伝子を利用した検出方法に関する。詳しくは高血圧に関連する複数の遺伝子の多型を利用した検出方法及び該方法に用いられるキットに関する。高血圧を発症するリスクを求めることに本発明を利用できる。

10 背景技術

高血圧は多因子疾患であり、個人個人の遺伝的背景と多様な環境因子の相互作用により発症が規定される（非特許文献1）。高血圧は冠動脈疾患、脳卒中、慢性腎疾患の主要な危険因子であるため、高血圧の予防は社会的・公衆衛生学的に重要である。高血圧を予防するための一つの方法は高血圧感受性遺伝子を同定することである。連鎖解析（非特許文献2～4）および候補遺伝子による関連解析（非特許文献5～8）により、高血圧と関連する染色体上のいくつかの遺伝子座および候補遺伝子群が同定された。今までにゲノム疫学的研究によりアンギオテンシノーゲン（非特許文献5）、 α -アデューシン（非特許文献6）、Gタンパク質 β 3サブユニット（非特許文献7）、および β 2アドレナリン受容体（非特許文献8）などの遺伝子多型と高血圧罹患との関連が報告されているが、高血圧感受性遺伝子は未だ十分に同定されていない。さらに、異なる人種では異なるゲノム多型を有するため、それぞれの人種で多型と高血圧との関連についてのデータベースを構築することが重要である。

非特許文献1：Lifton RP, Gharavi AG, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. Cell. 2001;104:545-556.

非特許文献 2 : Xu X, Rogus JJ, Terwedow HA, Yang J, Wang Z, Chen C, Niu T, Wang B, Xu H, Weiss S, Schork NJ, Fang Z. An extreme-sib-pair genome scan for genes regulating blood pressure. *Am J Hum Genet.* 1999;64:1694-1701.

5 非特許文献 3 : Krushkal J, Ferrell R, Mockrin SC, Turner ST, Sing CF, Boerwinkle E. Genome-wide linkage analysis of systolic blood pressure using highly discordant siblings. *Circulation.* 1999;99:1407-141.

非特許文献 4 : Rice T, Rankinen T, Province MA, Chagnon YC, Pérusse L, Borecki IB, Bouchard C, Rao DC. Genome-wide linkage analysis of systolic
10 and diastolic blood pressure: the Québec Family Study. *Circulation.* 2000;102:1956-1963.

非特許文献 5 : Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev YV, Lifton RP, Williams CS, Charru A, Hunt SC, Hopkins PN, Williams RR, Lalouel J-M, Corvol P. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell*
15 11. 1992;71:169-180.

非特許文献 6 : Cusi D, Barlassina C, Azzani T, Casari G, Citterio L, DeVoto M, Gloriso N, Lanzani C, Manunta P, Righetti M, Rivera R, Stella P, Troffa C, Zagato L, Bianchi G. Polymorphisms of α -adducin and salt sensitivity in patients with essential hypertension. *Lancet.* 1997;349:1353-1
20 357.

非特許文献 7 : Siffert W, Rosskopf D, Siffert G, Busch S, Moritz A, Erbel R, Sharma AM, Ritz E, Wichmann H-E, Jakobs KH, Horsthemke B. Association of a human G-protein β_3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet.* 1998;18:45-48.

25 非特許文献 8 : Bray MS, Krushkal J, Li L, Ferrell R, Kardina S, Sing CF,

Turner ST, Boerwinkle E. Positional genomic analysis identifies the b2-adrenergic receptor gene as a susceptibility locus for hypertension. Circulation. 2000;101:2877-2882.

5 発明の開示

以上のように、今までに数多くの遺伝子多型と高血圧との関連解析が行われてきた。しかし多くの研究についてはその意義について一定の見解は得られていない。その主な理由は多くの研究においては対象集団の大きさが十分でないことと、遺伝子多型のみならず環境因子が人種間で異なっていることに起因する。さらに、たとえ高血圧との関連が認められたとしても、大規模集団における解析では相対危険度（オッズ比）が低いのが一般的である。

本発明は以上の背景に鑑みなされたものであって、その目的は高精度で予知確率の高い高血圧の遺伝子リスクを診断する手段を提供し、高血圧の一次予防に貢献することである。

15

本発明者らは、以上の目的を達成するために数種類の公的データベースを用いて冠動脈硬化、冠動脈攣縮、高血圧、糖尿病、高脂血症などとの関連が推定される 71 遺伝子を抜粋し、遺伝子の機能変化との関連が予想されるものなどを中心に 112 多型を選択した。続いて、この 71 遺伝子 112 多型に関して心筋梗塞との関連解析を心筋梗塞 445 例と対照 464 例について行い、男性で 19 個、女性で 18 個の一塩基多型 (SNP: single nucleotide polymorphism) が心筋梗塞発症と関連することを見出したが (Yamada Y, Izawa H, Ichihara S, et al. Prediction of risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes. N Engl J Med. in press.), それらの多型群の中には高血圧の候補遺伝子も含まれていた。そこで、これらの SNP と高血圧との関連について大規模関連解析を行った。

25

その結果、高血圧と関連する SNP を男性で 4 個、女性で 4 個同定することに成功した。更に、これらの多型を組み合わせで解析する多項ロジスティック回帰分析の stepwise forward selection method により、最大オッズ比が男性で 5.34、女性で 46.86 を呈し、過去に報告された関連解析の中で最大のオッズ比を示した。

- 5 この結果から、これらの SNP の中から複数の SNP を選択し、各 SNP を解析した結果を組み合わせで用いれば、信頼性が高く、予知確率の高い高血圧のリスク診断が行えるとの知見が得られた。本発明は以上の知見に基づくものであって、次の構成を提供する。

[1] 以下の工程(a)を含んでなる、核酸試料の遺伝子型を検出する方法、

- 10 (a) 核酸試料における、以下の(1)～(4)からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程、

(1)グリコプロテイン Ia 遺伝子の塩基番号 1648 位の多型、

(2)ケモカイン受容体 2 遺伝子の塩基番号 190 位の多型、

(3)アポリポプロテイン C-III 遺伝子の塩基番号 1100 位の多型、及び

- 15 (4)G-タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子の塩基番号 825 位の多型。

[2] 以下の工程(b)を含んでなる、核酸試料の遺伝子型を検出する方法、

- (b) 核酸試料における、以下の(5)～(8)からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程、

(5)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-850 位の多型、

- 20 (6)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-238 位の多型、

(7)インスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の塩基番号 3494 位の多型、及び

(8)グリコプロテイン Ib α 遺伝子の塩基番号 1018 位の多型。

[3] 以下の工程(i)～(iii)を含んでなる、高血圧のリスク診断方法、

- 25 (i)核酸試料における、以下の(1)～(4)からなるグループより選択される二つ以

上の多型を解析する工程、

- (1) グリコプロテイン Ia 遺伝子の塩基番号 1648 位の多型、
- (2) ケモカイン受容体 2 遺伝子の塩基番号 190 位の多型、
- (3) アポリポプロテイン C-III 遺伝子の塩基番号 1100 位の多型、及び
- 5 (4) G-タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子の塩基番号 825 位の多型、

(ii) 前記工程によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び

(iii) 決定された遺伝子型から高血圧の遺伝的リスクを求める工程。

[4] 以下の工程 (iv) ~ (vi) を含んでなる、高血圧のリスク診断方法、

- 10 (iv) 核酸試料における、以下の (5) ~ (8) からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程、

- (5) 腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-850 位の多型、
- (6) 腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-238 位の多型、
- (7) インスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の塩基番号 3494 位の多型、及

15 び

- (8) グリコプロテイン Ib α 遺伝子の塩基番号 1018 位の多型、

(v) 前記工程によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び

(vi) 決定された遺伝子型から高血圧の遺伝的リスクを求める工程。

- 20 [5] 以下の (1) ~ (4) からなるグループより選択される二つ以上の核酸を含んでなる遺伝子型検出用キット、

- (1) グリコプロテイン Ia 遺伝子の塩基番号 1648 位の多型を解析するための核酸、
- (2) ケモカイン受容体 2 遺伝子の塩基番号 190 位の多型を解析するための核酸、
- (3) アポリポプロテイン C-III 遺伝子の塩基番号 1100 位の多型を解析するため

25 の核酸、及び

(4)G-タンパク質 β 3 サブユニット遺伝子の塩基番号 825 位の多型を解析するための核酸。

[6] 以下の(5)～(8)からなるグループより選択される二つ以上の核酸を含んでなる遺伝子型検出用キット、

5 (5)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-850 位の多型を解析するための核酸、

(6)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-238 位の多型を解析するための核酸、

(7)インスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の塩基番号 3494 位の多型を解析するための核酸、及び

10 (8)グリコプロテイン 1b α 遺伝子の塩基番号 1018 位の多型を解析するための核酸。

[7] 以下の(1)～(4)からなるグループより選択される二つ以上の核酸が不溶性支持体に固定されてなる固定化核酸、

(1)グリコプロテイン 1a 遺伝子の塩基番号 1648 位の多型を解析するための核酸、

(2)ケモカイン受容体 2 遺伝子の塩基番号 190 位の多型を解析するための核酸、

15 (3)アポリポプロテイン C-III 遺伝子の塩基番号 1100 位の多型を解析するための核酸、及び

(4)G-タンパク質 β 3 サブユニット遺伝子の塩基番号 825 位の多型を解析するための核酸。

20 [8] 以下の(5)～(8)からなるグループより選択される二つ以上の核酸が不溶性支持体に固定されてなる固定化核酸、

(5)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-850 位の多型を解析するための核酸、

(6)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-238 位の多型を解析するための核酸、

(7)インスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の塩基番号 3494 位の多型を解析するための核酸、及び

25 (8)グリコプロテイン 1b α 遺伝子の塩基番号 1018 位の多型を解析するための核

酸。

図面の簡単な説明

図 1 は実施例におけるスクリーニング関連解析において検討した 112 遺伝子多
5 型をまとめた表である。

図 2 は同じく実施例におけるスクリーニング関連解析において検討した 112 遺
伝子多型をまとめた表である。

10 図 3 は実施例において遺伝子型を決定するために使用されるプライマー（上か
ら順に配列番号 16、17、18、14、15、11、12、13、8、9、1
0、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、3
0）及びプローブ（上から順に配列番号 31、32、33、34）及びその他の
条件をまとめた表である。図中、FITC はフルオレセインイソチオシアネートを、
15 TxR はテキサスレッドを、Biotin はビオチンをそれぞれ表す。

図 4 は実施例の関連解析において検討した一塩基多型をまとめた表である。

図 5 は実施例における関連解析の対象とした男性 1107 例及び女性 833 例の背景
20 データをまとめた表である。年齢、Body mass index、収縮期血圧、拡張期血圧、
血清クレアチニンの各データは平均±標準偏差で表される。表中、*1 は $P<0.000$
1 を、*2 は $P<0.001$ を、*3 は $P<0.01$ をそれぞれ表す。

図 6 は関連解析の対象とした遺伝子多型と多項ロジスティック回帰分析の結果
25 をまとめた表である。各 SNP において低い方の P 値は太字で表される。

図 7 は高血圧と関連のある遺伝子多型について遺伝子型の分布を示した図である。

- 5 図 8 は高血圧と関連のある遺伝子多型における多項ロジスティック回帰分析の step forward selection method を行った結果を示す表である。

図 9 は男性における 4 個の組合せ遺伝子多型を用いた高血圧の遺伝的リスク診断を行った結果を示す表である。

10

図 10 は女性における 4 個の組合せ遺伝子多型を用いた高血圧の遺伝的リスク診断を行った結果を示す表である。

- 図 11 は高血圧のリスク診断における累積オッズ比と一塩基多型の数の関連を表したグラフである。(A) は男性、(B) は女性における関連を示す。(A) における各 SNP は、SNP1:GPIa(1648A→G)多型、SNP2:CCR2(190G→A)多型、SNP3:ApoC-III(1100C→T)多型、SNP4:GPβ3(825C→T)多型である。(B) における各 SNP は、SNP1:TNFα(-850C→T)多型、SNP2:TNFα(-238G→A)多型、SNP3:IRS-1(3494G→A)多型、SNP4:GPIbα(1018C→T)多型である。

20

発明を実施するための最良の形態

- 本発明の第 1 の局面は核酸試料の遺伝子型を検出する方法に関し、その一態様は以下の(1)～(4)からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程を含むことを特徴とする。他の態様としては、以下の(5)～(8)からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程を含むことを特徴とする。尚、
- 25

以上の工程の結果得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定することにより高血圧の遺伝的リスクを求めることができる。

(1) グリコプロテイン Ia (Glycoprotein Ia) 遺伝子の塩基番号 1648 位の多型 : 1648A→G (以下、「GPIa(1648A→G)多型」ともいう)

5 (2) ケモカイン受容体 2 (Chemokine receptor 2) 遺伝子の塩基番号 190 位の多型 : 190G→A (以下、「CCR2(190G→A)多型」ともいう)

(3) アポリポプロテイン C-III (Apolipoprotein C-III) 遺伝子の塩基番号 1100 位の多型 : 1100C→T (以下、「ApoC-III(1100C→T)多型」ともいう)

10 (4) G-タンパク質 β 3 サブユニット (G-protein β 3 subunit) 遺伝子の塩基番号 825 位の多型 : 825C→T (以下、「GP β 3(825C→T)多型」ともいう)

(5) 腫瘍壊死因子 α (Tumor necrosis factor- α) 遺伝子の塩基番号-850 位の多型 : -850C→T (以下、「TNF α (-850C→T)多型」ともいう)

(6) 腫瘍壊死因子 α (Tumor necrosis factor- α) 遺伝子の塩基番号-238 位の多型 : -238G→A (以下、「TNF α (-238G→A)多型」ともいう)

15 (7) インスリン受容体サブストレート 1 (Insulin receptor substrate-1) 遺伝子の塩基番号 3494 位の多型 : 3494G→A (以下、「IRS-1(3494G→A)多型」ともいう)

(8) グリコプロテイン Ib α (Glycoprotein Ib α) 遺伝子の塩基番号 1018 位の多型 : 1018C→T (以下、「GPIb α (1018C→T)多型」ともいう)

20 以上において 1648A→G のような表記は、当該塩基番号位置の多型が矢印の前又は後の塩基である二つの遺伝子型からなることを意味する。

各遺伝子における塩基番号は公共のデータベースである GenBank (NCBI) に登録されている公知の配列を基準として表される。尚、配列番号 1 の塩基配列 (Accession No. X17033 M28249: Human mRNA for integrin alpha-2 subunit) におい

25

て 1648 番目の塩基がグリコプロテイン Ia 遺伝子の 1648 位塩基に相当する。同様に配列番号 2 の塩基配列 (Accession No. U95626 : Homo sapiens ccr2b (ccr2), ccr2a (ccr2), ccr5 (ccr5) and ccr6(ccr6) genes, complete cds, and lactoferrin (lactoferrin) gene, partial cds, complete sequence (但し、配列番号

5 2 の配列は 50,000 番目までの配列)) において 46295 番目の塩基がケモカイン受容体 2 遺伝子の 190 位塩基に相当し、配列番号 3 の塩基配列 (Accession No. X01392 : Human apolipoprotein CIII gene and apo AI-apo CIII intergenic) において 1100 番目の塩基がアポリポプロテイン C-III 遺伝子の 1100 位塩基に相当し、配列番号 4 の塩基配列 (Accession No. M31328 : Human guanine nucleotide-binding protein beta-3 subunit mRNA, complete cds.) において 831 番目の塩基が

10 G-タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子の 825 位塩基に相当し、配列番号 5 の塩基配列 (Accession No. L11698 : Homo sapiens tumor necrosis factor alpha gene, promoter region.) において 203 番目の塩基が腫瘍壊死因子 α 遺伝子の -850 位塩基に相当し、配列番号 5 の塩基配列 (Accession No. L11698 : Homo sapiens

15 tumor necrosis factor alpha gene, promoter region.) において 816 番目の塩基が腫瘍壊死因子 α 遺伝子の -238 位塩基に相当し、配列番号 6 の塩基配列 (Accession No. S85963 : hIRS-1=rat insulin receptor substrate-1 homolog [human, cell line FOCUS, Genomic, 6152 nt].) において 3494 番目の塩基がインスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の塩基番号 3494 位塩基に相当し、配列番号 7 の塩

20 基配列 (Accession No. J02940 : Human platelet glycoprotein Ib alpha chain mRNA, complete cds.) において 524 番目の塩基がグリコプロテイン Ib α 遺伝子の 1018 位塩基に相当する。

本発明において「多型を解析する」とは、解析対象の遺伝子多型について核酸試

25 料がどのような遺伝子型を有するかを調べることを意味し、多型が存在する位置

の塩基（塩基配列）を調べることと同義である。典型的には、GPIa(1648A→G)多型の解析を例に採れば、核酸試料におけるグリコプロテイン Ia の遺伝子型が AA（1648 位塩基が両アレル共に A のホモ接合体）、AG（1648 位塩基が A のアレルと G のアレルとのヘテロ接合体）、及び GG（1648 位塩基が両アレル共に G のホモ接合体）の中のいずれであるかを調べることを意味する。

上記の(1)～(4)の多型は、後述の実施例で示されるように、日本人男性を対象とした解析において高血圧の遺伝的リスクの判定に利用することが特に有効と認められた多型である。従ってこれらの多型を解析対象とすることは、被験者として男性（特に日本人男性）を採用するときに、より高精度で予知確率の高い診断を可能とする。

同様に上記の(5)～(8)の多型は、後述の実施例で示されるように、日本人女性を対象とした解析において高血圧の遺伝的リスクの判定に利用することが特に有効と認められた多型である。従ってこれらの多型を解析対象とすることは、被験者として女性（特に日本人女性）を採用するときに、より高精度で予知確率の高い診断を可能とする。

ここで、原則的には解析する多型の数の増加に比例して核酸試料の遺伝子型がより細かく分類され、これによって一層予知確率の高い高血圧の遺伝的リスクの診断を行うことができる。かかる見地から、上記の(1)～(4)の多型の中でより多くの多型を解析して遺伝子型を検出することが好ましい。従って、(1)～(4)のすべての多型を解析することが最も好ましい。三つ以下の多型を組み合わせで遺伝子型の検出を行う場合には、後述の実施例で示されるオッズ比の高い多型を優先的に選択して用いることが好ましい。例えば三つの多型を組み合わせで用いるの

であれば、オッズ比が上位である三つの多型、即ち(2)、(3)、及び(4)を選択することが好ましい。同様に例えば二つの多型を組み合わせる用いるのであれば(2)及び(4)を選択することが好ましい。

- 5 (5)～(8)の多型から選択される二つ以上の多型を解析する場合も同様に、これらすべての多型、即ち四つの多型を解析することが最も好ましい。三つ以下の多型を組み合わせる用いて遺伝子型の検出を行う場合には、後述の実施例で示されるオッズ比の高い多型を優先的に選択して用いることが好ましい。例えば三つの多型を組み合わせる用いるのであれば(5)、(7)、及び(8)を選択することが好ましい。同様に例えば二つの多型を組み合わせる用いるのであれば(5)及び(7)を選択することが好ましい。
- 10

各遺伝子多型を解析する方法は特に限定されるものではなく例えばアレル特異的プライマー（及びプローブ）を用い、PCR 法による増幅、及び増幅産物の多型を蛍光又は発光によって解析する方法や、PCR(polymerase chain reaction)法を利用した PCR-RFLP(restriction fragment length polymorphism: 制限酵素断片長多型)法、PCR-SSCP(single strand conformation polymorphism: 単鎖高次構造多型)法(Orita, M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 86, 2766-2770(1989)等)、PCR-SSO(specific sequence oligonucleotide: 特異的配列オリゴヌクレオチド)法、PCR-SSO 法とドットハイブリダイゼーション法を組み合わせた ASO (allele specific oligonucleotide: アレル特異的オリゴヌクレオチド)ハイブリダイゼーション法(Saiki, Nature, 324, 163-166(1986)等)、又は TaqMan-PCR 法(Livak, KJ, Genet Anal, 14, 143(1999), Morris, T. et al., J. Clin. Microbiol., 34, 2933(1996))、Invader 法(Lyamichev V et al., Nat Biotechnol, 17, 292(1999))、プライマー伸長法を用いた MALDI-TOF/MS(matrix)法(Haff LA, Smirnov I

15

20

25

P, Genome Res 7,378(1997)), RCA(rolling cycle amplification)法(Lizardi P
M et al., Nat Genet 19,225(1998)), DNA チップ又はマイクロアレイを用いた
方法(Wang DG et al., Science 280,1077(1998)等)、プライマー伸長法、サザン
5 プロットハイブリダイゼーション法、ドットハイブリダイゼーション法 (Southe
rn,E., J. Mol. Biol. 98, 503-517(1975)) 等、公知の方法を採用できる。さら
に、解析対象の多型部分を直接シーケンスすることにより解析してもよい。尚、
これらの方法を任意に組み合わせて多型解析を行ってもよい。

核酸試料が少量の場合には検出感度ないし精度の面から PCR 法を利用した方法
10 (例えば PCR-RFLP 法)により解析することが好ましい。また、PCR 法又は PCR 法
を応用した方法などの遺伝子増幅法により核酸試料を予め増幅(核酸試料の一部
領域の増幅を含む)した後、上記いずれかの解析方法を適用することもできる。

一方、多数の核酸試料を解析する場合には、アリルト異的 PCR 法、アリルト異
的ハイブリダイゼーション法、TaqMan-PCR 法、Invader 法、プライマー伸長法を
15 用いた MALDI-TOF/MS(matrix)法、RCA(rolling cycle amplification)法、又は D
NA チップ又はマイクロアレイを用いた方法等、多数の検体を比較的短時間で解析
することが可能な解析方法を用いることが特に好ましい。

以上の方法では、各方法に応じたプライマーやプローブ等の核酸(本発明にお
20 いて、「多型解析用核酸」ともいう)が使用される。多型解析用核酸の例としては、
解析対象の多型を含む遺伝子において、当該多型部位を含む一定領域(部分 DNA
領域)に相補的な配列を有する核酸を挙げることができる。また、解析対象の多
型を含む遺伝子において当該多型部位を含む一定領域(部分 DNA 領域)に相補的
な配列を有し、当該多型部分を含む DNA フラグメントを特異的に増幅できるよう
25 に設計された核酸(プライマー)を挙げることができる。このような核酸として

は、例えばグリコプロテイン Ia 遺伝子の 1648 位の多型が解析対象の場合には 1648 位の塩基が A（アデニン）であるグリコプロテイン Ia 遺伝子の 1648 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸、又は 1648 位の塩基が G（グアニン）であるグリコプロテイン Ia 遺伝子の 1648 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸が該当する。

多型解析用核酸の他の具体例としては、解析対象の多型部位がいずれかの遺伝子型である場合にのみ当該多型部位を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットを挙げることができる。より具体的には解析対象の多型部位を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、多型部位がいずれかの遺伝子型であるアンチセンス鎖の当該多型部位を含む部分 DNA 領域に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、センス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーとからなる核酸セットを例示することができる。このような核酸セットとしてはグリコプロテイン Ia 遺伝子の 1648 位の多型が解析対象の場合には、グリコプロテイン Ia 遺伝子の 1648 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、1648 位塩基が A（アデニン）であるグリコプロテイン Ia 遺伝子のアンチセンス鎖において 1648 位塩基を含む部分 DNA 領域に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、センス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーとからなる核酸セット、又は 1648 位塩基が G（グアニン）であるグリコプロテイン遺伝子のアンチセンス鎖において 1648 位塩基を含む部分 DNA 領域に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、センス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーとからなる核酸セットが該当する。ここで、増幅される部分 DNA 領域の長さはその検出に適した範囲で適宜設定され例えば 50bp～200bp、好ま

しくは 80bp~150bp である。より具体的には例えば、GPIa(1648A→G)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。尚、以下の配列の下線部は多型に対応する部分を表す。また、配列中の N は A、T、C、及び G のいずれかであることを意味する。

5

センスプライマー

GAGTCTACCTGTTTACTATCAANA : 配列番号 8、又は

GAGTCTACCTGTTTACTATCAANG : 配列番号 9

アンチセンスプライマー

10 ACCAGTACTAAAGCAAATTAACT : 配列番号 10

同様に、CCR2(190G→A)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

アンチセンスプライマー

15 GCAGTTTATTAAGATGAGGNCG : 配列番号 11、又は

TTGCAGTTTATTAAGATGAGGNTG : 配列番号 12

センスプライマー

GGTGCTCCCTGTCATAAATTTGA : 配列番号 13

20 同様に、ApoC-III(1100C→T)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

センスプライマー

CCTTCTCAGCTTCATGCAGG : 配列番号 14、

アンチセンスプライマー

25 GTCTTGGTGGCGTGCTTCA : 配列番号 15

同様に、GP β 3 (825C→T) 多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

センスプライマー

5 TCTGCGGCATCAGTNCG : 配列番号 1 6、又は

TCTGCGGCATCAGTNIG : 配列番号 1 7

アンチセンスプライマー

GAATAGTAGGCGGCCACTGA : 配列番号 1 8

10 同様に、TNF α (-850C→T) 多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

アンチセンスプライマー

TCTACATGGCCCTGTCTTNGT : 配列番号 1 9、又は

CTCTACATGGCCCTGTCTTNAT : 配列番号 2 0

15 センスプライマー

CTCTACATGGCCCTGTCTTTAT : 配列番号 2 1

同様に、TNF α (-238G→A) 多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

20 アンチセンスプライマー

CCCCATCCTCCCTGCTNCG : 配列番号 2 2、又は

CCCCATCCTCCCTGCTNIG : 配列番号 2 3

センスプライマー

AGTCAGTGGCCCAGAAGACC : 配列番号 2 4

同様に、IRS-1(3494G→A)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

センスプライマー

GGGCCCTGCACCTCCNGG : 配列番号 2 5、又は

5 GGGCCCTGCACCTCCNAG : 配列番号 2 6

アンチセンスプライマー

GGGTAGGCCTGCAAATGCTA : 配列番号 2 7

同様に、GPIb α (1018C→T)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

センスプライマー

CCCAGGGCTCCTGNCG : 配列番号 2 8、又は

CCCCAGGGCTCCTGNTG : 配列番号 2 9

アンチセンスプライマー

15 TGAGCTTCTCCAGCTTGGGTG : 配列番号 3 0

一方、プローブの具体例として以下のものを挙げることができる。

ApoC-III(1100C→T)多型解析用プローブとして

CAGCTTCATGCAGGGCTACA : 配列番号 3 1、又は

20 CAGCTTCATGCAGGGITACA : 配列番号 3 2。

TNF α (-850C→T)多型解析用プローブとして

ACATGGCCCTGTCTTNGTTAAG : 配列番号 3 3、又は

ACATGGCCCTGTCTTNATTAAG : 配列番号 3 4。

IRS-1 (3494G→A) 多型解析用プローブとして

CACCTCCNGGGGCTGCTAG : 配列番号 35、又は

CACCTCCNAGGGCTGCTAG : 配列番号 36。

- 5 以上の核酸プライマー、核酸プローブは単なる一例であって、核酸プライマーであれば目的の増幅反応を支障なく行える限度において、他方核酸プローブであれば目的のハイブリダイゼーション反応を支障なく行える限度において一部の塩基配列に改変が施されたものであってもよい。ここでの「一部の改変」とは、塩基の一部が欠失、置換、挿入及び／又は付加されていることを意味する。改変にか
- 10 かる塩基数は例えば 1～7 個、好ましくは 1～5 個、更に好ましくは、1～3 個である。尚、このような改変は、原則として多型部位に対応する塩基以外の部分において行われる。

- 多型解析用核酸（プローブ、プライマー）には、解析方法に応じて適宜 DNA 断
- 15 片又は RNA 断片が用いられる。多型解析用核酸の塩基長はそれぞれの機能が発揮される長さであればよく、プライマーとして用いられる場合の塩基長の例としては 10～50bp 程度、好ましくは 15～40bp 程度、更に好ましくは 15～30bp 程度である。

- 尚、プライマーとして用いられる場合には増幅対象に特異的にハイブリダイズ
- 20 し、目的の DNA フラグメントを増幅することができる限り鋳型となる配列に対して多少のミスマッチがあってもよい。プローブの場合も同様に、検出対象の配列と特異的なハイブリダイズが行える限り、検出対象の配列に対して多少のミスマッチがあってもよい。ミスマッチの程度としては、1～数個、好ましくは 1～5 個、更に好ましくは 1～3 個である。

- 25 多型解析用核酸（プライマー、プローブ）はホスホジエステル法など公知の方

法によって合成することができる。尚、多型解析用核酸の設計、合成等に関しては成書（例えば Molecular Cloning, Third Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York）を参考にすることができる。

- 5 本発明における多型解析用核酸を予め標識物質で標識しておくことができる。このような標識化核酸を用いることにより例えば、増幅産物の標識量を指標として多型の解析を行うことができる。また、多型を構成する各遺伝子型の遺伝子における部分 DNA 領域をそれぞれ特異的に増幅するように設計された 2 種類のプライマーを互いに異なる標識物質で標識しておけば、増幅産物から検出される標識
- 10 物質及び標識量によって核酸試料の遺伝子型を判別できる。このような標識化プライマーを用いた検出方法の具体例としては、多型を構成する各遺伝子型のセンス鎖にそれぞれ特異的にハイブリダイズする 2 種類の核酸プライマー（アリル特異的センスプライマー）をフルオレセインイソチオシアネートとテキサスレッドでそれぞれ標識し、これら標識化プライマーとアンチセンス鎖に特異的にハイブ
- 15 リダイズするアンチセンスプライマーとを用いて多型部位を含む部分 DNA 領域を増幅し、得られた増幅産物における各蛍光物質の標識量を測定して多型を検出する方法を挙げることができる。尚、ここでのアンチセンスプライマーを例えばビオチンで標識しておけば、ビオチンとアビジンとの特異的な結合を利用して増幅産物の分離を行うことができる。

20

- 多型解析用核酸の標識に用いられる標識物質としては ^{32}P などの放射性同位元素、フルオレセインイソチオシアネート、テトラメチルローダミンイソチオシアネート、テキサスレッドなどの蛍光物質を例示でき、標識方法としてはアルカリフォスファターゼ及び T4 ポリヌクレオチドキナーゼを用いた 5' 末端標識法、T4
- 25 DNA ポリメラーゼや Klenow 断片を用いた 3' 末端標識法、ニックトランスレーショ

ン法、ランダムプライマー法 (Molecular Cloning, Third Edition, Chapter 9, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York)などを例示できる。

以上の多型解析用核酸を不溶性支持体に固定化した状態で用いることもできる。固定化に使用する不溶性支持体をチップ状、ビーズ状などに加工しておけば、これら固定化核酸を用いて多型の解析をより簡便に行うことができる。

核酸試料は、被験者の血液、皮膚細胞、粘膜細胞、毛髪等から公知の抽出方法、精製方法を用いて調製することができる。多型解析対象の遺伝子を含むものであれば、任意の長さのゲノム DNA を核酸試料として用いることができる。また、必ずしも解析対象の遺伝子のすべてが一の核酸上に存在する核酸試料を用いる必要はない。即ち、本発明の核酸試料としては、解析対象の遺伝子のすべてが一の核酸上に存在しているもの、解析対象の遺伝子が二以上の核酸上に分かれて存在しているもののいずれをも用いることができる。尚、核酸試料において解析対象の遺伝子が完全な状態（即ち、遺伝子の全長が存在する状態）でなくても、少なくとも解析される多型部位が存在している限りにおいて断片的、部分的な状態であってもよい。

各遺伝子多型の解析は遺伝子多型ごとに、又は複数若しくは全部を同時に行う。前者の場合としては例えば、被験者から得た核酸試料を解析対象の多型の数に合わせて分注し、各多型の解析を個別に行う。後者の場合としては例えば、DNA チップまたはマイクロアレイによって行うことができる。尚、ここでいう同時とは解析過程のすべての操作が同時に行われることのみを意味するのではなく、一部の操作（例えば核酸増幅操作、プローブのハイブリダイズ、又は検出）が同時に行われる場合も含む。

解析対象の遺伝子の転写産物である mRNA を利用して各遺伝子の多型を解析することもできる。例えば被験者の血液、尿等から解析対象である遺伝子の mRNA を抽出、精製した後、ノーザンブロット法 (Molecular Cloning, Third Edition, 7.42, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York)、ドットブロット法 (Molecular Cloning, Third Edition, 7.46, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York)、RT-PCR 法 (Molecular Cloning, Third Edition, 8.46, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York)、DNA チップ (DNA アレイ) を用いた方法などを実行することにより、mRNA を出発材料として多型解析を行うことができる。

10 さらに、上記の多型の中でアミノ酸の変化を伴うものについては、解析対象の遺伝子の発現産物を用いて多型解析を行うこともできる。この場合、多型部位に対応するアミノ酸を含んでいる限り、部分タンパク質、部分ペプチドであっても解析用試料として用いることができる。

15 このような遺伝子の発現産物を用いて解析する方法としては、多型部位のアミノ酸を直接分析する方法、又は立体構造の変化を利用して免疫学的に分析する方法などが挙げられる。前者としては、周知のアミノ酸配列分析法 (エドマン法を利用した方法) を用いることができる。後者としては、多型を構成するいずれかの遺伝子型を有する遺伝子の発現産物に特異的な結合活性を有するモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体を用いた、E L I S A 法 (酵素結合免疫吸着定量法)、ラジオイムノアッセイ、免疫沈降法、免疫拡散法等などを用いることができる。

25 以上説明した本発明の検出方法を実行することにより得られる多型情報を、高血圧の遺伝的リスクの診断に利用することができる。即ち、本発明は以上の検出

方法によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び決定された核酸試料の遺伝子型から遺伝的リスクを求める工程を含んでなる、高血圧のリスク診断方法も提供する。ここでの遺伝子型の決定は、典型的には、検出対象の多型に関して核酸試料の両アレルがいずれの遺伝子型をそれぞれ有するかを決定することである。GPIa(1648A→G)多型が検出対象である場合を例に採れば、典型的には核酸試料における GPIa の遺伝子型が AA (1648 位塩基が両アレル共に A のホモ接合体)、AG(1648 位塩基が A のアレルと G のアレルとのヘテロ接合体)、及び GG (1648 位塩基が両アレル共に G のホモ接合体) の中のいずれであるかを決定することである。

10

後述の実施例で得られた結果を考慮すれば、高精度かつ予知確率の高い高血圧の遺伝的リスクの診断を可能とするために、例えば GPIa(1648A→G)多型であれば核酸試料の遺伝子型が GG であるか、それとも AA 又は AG のいずれかであるかが決定される。同様に CCR2(190G→A)多型であれば AA であるか、それとも GG 又は GA のいずれかであるか、ApoC-III(1100C→T)多型であれば TT であるか、それとも CC 又は CT のいずれかであるか、GPβ3(825C→T)多型であれば CT 又は TT のいずれかであるか、それとも CC であるか、TNFα(-850C→T)多型であれば TT であるか、それとも CC 又は CT のいずれかであるか、TNFα(-238G→A)多型であれば GA 又は AA のいずれかであるか、それとも GG であるか、IRS-1(3494G→A)多型であれば G A 又は AA のいずれかであるか、それとも GG であるか、GPIbα(1018C→T)多型であれば CT 又は TT のいずれかであるか、それとも CC であるかが決定される。

15
20

高血圧の遺伝的リスクを診断することにより、将来的に高血圧を罹患するおそれの程度(発症し易さ)、即ち発症リスク(発症脆弱性)が予測され、また遺伝子型という客観的指標に基づいて高血圧の認定や病状の把握を行うことが可能とな

25

る。換言すれば、本発明の診断方法によって高血圧の発症リスクの評価、高血圧に罹患していることの認定、又は症状の把握を行うことができる。中でも発症リスクの評価を行えることは臨床上極めて有意義である。発症リスクを事前に知ることが高血圧の一次予防に貢献し、適切な予防措置を講じることを可能とするからである。

本発明の診断方法によって得られる情報は、適切な治療法の選択や、予後の改善、患者の QOL（クオリティー・オブ・ライフ）の向上、又は発症リスクの低減などに利用することができる。

10 本発明の診断方法を実行することにより、高血圧の発症リスク等をモニターすることができる。このようなモニターの結果、ある外的因子（環境因子、薬剤の投与など）と発症リスク等の増加との間に相関関係が認められれば、当該外的因子を危険因子と認定し、この情報を基に発症リスク等の低減を図ることが可能と考えられる。

15

本発明で得られる高血圧の発症に関連する遺伝情報は高血圧の治療（予防的処置を含む）に利用され得る。例えば、本発明の診断方法を実施した結果、解析対象の高血圧の発症リスクを高める遺伝子型であった場合に、発症リスクの低い遺伝子型を有する遺伝子を生体内に導入して発現させれば、当該遺伝子が発現することによって症状の軽減、発症の抑制、発症リスクの軽減などを期待できる。発症リスクの高い遺伝子型を有する遺伝子の mRNA に対するアンチセンス鎖を導入し、当該 mRNA の発現を抑制する方法によっても、同様の治療効果が期待される。

遺伝子又はアンチセンス鎖の導入は例えば、遺伝子導入用プラスミド又はウイルスベクターを用いた方法、エレクトロポレーション (Potter, H. et al., Pro

25

c. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 81, 7161-7165(1984))、超音波マイクロバブル (Lawrie, A., et al. Gene Therapy 7, 2023-2027 (2000))、リポフェクション (Feigner, P.L. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84, 7413-7417(1984))、マイクロインジェクション (Graessmann, M. & Graessmann, A., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 73, 366-370(1976))等の方法により行うことができる。これらの方法を利用して所望の遺伝子などを生体に対して直接的に導入 (in vivo 法) 又は間接的に導入 (ex vivo 法) することができる。

本発明の第2の局面は、上述した本発明の検出方法又は診断方法に使用されるキット (遺伝子型検出用キット、又は高血圧診断用キット) を提供する。かかるキットには上記の(1)~(4)の多型からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析するための核酸 (多型解析用核酸) が含まれる。他の態様としては上記の(5)~(8)の多型からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析するための核酸 (多型解析用核酸) を含んでキットが構築される。

多型解析用核酸は、それが適用される解析方法 (上述したアリルト異的核酸等を用いた PCR 法を利用する方法、PCR-RFLP 法、PCR-SSCP、TaqMan-PCR 法、Invader 法等) において、解析対象の多型部分を含む DNA 領域又はそれに対応する mRNA を特異的に増幅できるもの (プライマー) 又は特異的に検出できるもの (プローブ) として設計される。以下に本発明において提供されるキットの具体例を示す。

以下の(1)~(4)からなるグループより選択される二つ以上の核酸を含んでなる遺伝子型検出用キット、

(1) 1648 位塩基が A であるグリコプロテイン Ia 遺伝子の 1648 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸、又は 1648 位塩基が G であるグリコ

ロテイン 1a 遺伝子の 1648 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸、

- (2) 190 位塩基が G であるケモカイン受容体 2 遺伝子の 190 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸、又は 190 位が A であるケモカイン受容体 2
- 5 遺伝子の 190 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸、

(3) 1100 位が C であるアポリポプロテイン C-III 遺伝子の 1100 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸、又は 1100 位塩基が T であるアポリポプロテイン C-III 遺伝子遺伝子の 1100 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸、及び

- 10 (4) 825 位塩基が C である G-タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子の 825 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸、又は 825 位塩基が T である G-タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子の -482 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸。

以上では、(1)～(4)からなるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを

15 構成しているが、(1)～(4)の中から二つ以上を任意に選択してグループとし、かかるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成してもよい。例えば(2)～(4)からなるグループ(後述の実施例においてオッズ比が上位 3 位までの多型を解析するための核酸)より二つ以上の核酸を選択してキットを構成することができる。

20

以下の(5)～(8)からなるグループより選択される二つ以上の核酸を含んでなる遺伝子型検出用キット、

- (5) -850 位塩基が C である腫瘍壊死因子 α 遺伝子の -850 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸、又は -850 位塩基が T である腫瘍壊死因子 α 遺
- 25 伝子の -850 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸、

(6) -238 位塩基が G である腫瘍壊死因子 α 遺伝子の -238 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸、又は -238 位塩基が A である腫瘍壊死因子 α 遺伝子の -238 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸、

5 (7) 3494 位塩基が G であるインスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の 3494 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸、又は 3494 位塩基が A であるインスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の 3494 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸、及び

10 (8) 1018 位塩基が C であるグリコプロテイン Ib α 遺伝子の 1018 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸、又は 1018 位塩基が T であるグリコプロテイン Ib α 遺伝子の 1018 位塩基を含む部分 DNA 領域に相補的な配列を有する核酸。

以上では、(5)～(8)からなるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成しているが、(5)～(8)の中から二つ以上を任意に選択してグループとし、かかるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成してもよい。例えば(5)、
15 (7)、及び(8)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が上位 3 位までの多型を解析するための核酸）より二つ以上の核酸を選択してキットを構成することができる。

以下の(1)～(4)からなるグループより選択される二つ以上の核酸セットを含んでなる遺伝子型検出用キット、
20

(1) 核酸試料中のグリコプロテイン Ia 遺伝子の 1648 位塩基が A である場合にのみ、該グリコプロテイン Ia 遺伝子の 1648 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のグリコプロテイン Ia 遺伝子の 1648 位塩基が G である場合にのみ、該グリコプロテイン Ia 遺伝子の 16
25 48 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、

(2)核酸試料中のケモカイン受容体 2 遺伝子の 190 位塩基が G である場合にのみ、
該ケモカイン受容体 2 遺伝子の 190 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅す
るよう設計された核酸セット、又は核酸試料中のケモカイン受容体 2 遺伝子の
190 位塩基が A である場合にのみ、該ケモカイン受容体 2 遺伝子の 190 位塩基を
5 含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するよう設計された核酸セット、

(3)核酸試料中のアポリポプロテイン C-III 遺伝子の 1100 位塩基が C である場
合にのみ、該アポリポプロテイン C-III 遺伝子の 1100 位塩基を含む部分 DNA 領域
を特異的に増幅するよう設計された核酸セット、又は核酸試料中のアポリポプ
ロテイン C-III 遺伝子の 1100 位塩基が T である場合にのみ、アポリポプロテイン
10 C-III 遺伝子の 1100 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するよう設計さ
れた核酸セット、及び

(4)核酸試料中の G-タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子の 825 位塩基が C であ
る場合にのみ、該 G-タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子の 825 位塩基を含む部分
DNA 領域を特異的に増幅するよう設計された核酸セット、又は核酸試料中の G-
15 タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子の 825 位塩基が T である場合にのみ、該 G-タ
ンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子の 825 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増
幅するよう設計された核酸セット。

以上では、(1)～(4)からなるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを
構成しているが、(1)～(4)の中から二つ以上を任意に選択してグループとし、か
20 かるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成してもよい。例えば(2)
～(4)からなるグループ(後述の実施例においてオッズ比が上位 3 位までの多型を
解析するための核酸)より二つ以上の核酸を選択してキットを構成することがで
きる。

25 以下の(5)～(8)からなるグループより選択される二つ以上の核酸セットを含ん

でなる遺伝子型検出用キット、

(5)核酸試料中の腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-850 位塩基が C である場合にのみ、
該腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-850 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するよ
うに設計された核酸セット、又は核酸試料中の腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-850 位塩
5 基が T である場合にのみ、該腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-850 位塩基を含む部分 DNA
領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、

(6)核酸試料中の腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-238 位塩基が G である場合にのみ、
該腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-238 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するよ
うに設計された核酸セット、又は核酸試料中の腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-238 位塩
10 基が A である場合にのみ、該腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-238 位塩基を含む部分 DNA
領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、

(7)核酸試料中のインスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の 3494 位塩基が G
である場合にのみ、該インスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の 3494 位塩基を
含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試
15 料中のインスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の 3494 位塩基が A である場合に
のみ、該インスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の 3494 位塩基を含む部分 DNA
領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、及び

(8)核酸試料中のグリコプロテイン Ib α 遺伝子の 1018 位塩基が C である場合に
のみ、該グリコプロテイン Ib α 遺伝子の 1018 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異
20 的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のグリコプロテイン
Ib α 遺伝子の 1018 位塩基が T である場合にのみ、該グリコプロテイン Ib α 遺伝
子の 1018 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するように設計された核酸セ
ット。

以上では、(5)～(8)からなるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを
25 構成しているが、(5)～(8)の中から二つ以上を任意に選択してグループとし、か

かるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成してもよい。例えば(5)、(7)、及び(8)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が上位3位までの多型を解析するための核酸）より二つ以上の核酸を選択してキットを構成することができる。

5

以下の(1)～(4)からなるグループより選択される二つ以上の核酸セットを含んでなる遺伝子型検出用キット、

(1)グリコプロテイン Ia 遺伝子の 1648 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、1648 位塩基が A であるグリコプロ
10 テイン Ia 遺伝子の 1648 位塩基を含む部分 DNA 領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー及び／又は 1648 位塩基が G であるグリコプロテイン Ia 遺伝子において 1648 位塩基を含む部分 DNA 領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、グリコプロテイン Ia 遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、からなる核酸セット、

15 (2)ケモカイン受容体 2 遺伝子の 190 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、190 位塩基が G であるケモカイン受容体 2 遺伝子において 190 位塩基を含む部分 DNA 領域、に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマー及び／又は 190 位塩基が A であるケモカイン受容体 2 遺伝子において 190 位塩基を含む部分 DNA 領域、に対して特異的にハ
20 イブリダイズするアンチセンスプライマーと、ケモカイン受容体 2 遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、からなる核酸セット、

(3)アポリポrotein C-III 遺伝子の 1100 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、及び

25 (4)G-タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子の 825 位塩基を含む部分 DNA 領域を特

異的に増幅するように設計された核酸セットであって、825 位塩基が C である G-タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子において 825 位塩基を含む部分 DNA 領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー及び／又は 825 位塩基が T である G-タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子において 825 位塩基を含む部分 DNA 領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、G-タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、からなる核酸セット。

以上では、(1)～(4)からなるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成しているが、(1)～(4)の中から二つ以上を任意に選択してグループとし、かかるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成してもよい。例えば(2)～(4)からなるグループ(後述の実施例においてオッズ比が上位 3 位までの多型を解析するための核酸)より二つ以上の核酸を選択してキットを構成することができる。

以下の(5)～(8)からなるグループより選択される二つ以上の核酸セットを含んでなる遺伝子型検出用キット、

(5)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-850 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、-850 位塩基が C である腫瘍壊死因子 α 遺伝子において-850 位塩基を含む部分 DNA 領域、に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマー及び／又は-850 位塩基が T である腫瘍壊死因子 α 遺伝子において-850 位塩基を含む部分 DNA 領域、に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、腫瘍壊死因子 α 遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、からなる核酸セット、

(6)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-238 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、-238 位塩基が G である腫瘍壊死因子 α

遺伝子において-238 位塩基を含む部分 DNA 領域、に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマー及び／又は-238 位塩基が A である腫瘍壊死因子 α 遺伝子において-238 位塩基を含む部分 DNA 領域、に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、腫瘍壊死因子 α 遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、からなる核酸セット、

(7)インスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の 3494 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、3494 位塩基が G であるインスリン受容体サブストレート 1 遺伝子において 3494 位塩基を含む部分 DNA 領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー及び／又は 3494 位塩基が A であるインスリン受容体サブストレート 1 遺伝子において 3494 位塩基を含む部分 DNA 領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、インスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、からなる核酸セット、及び

(8)グリコプロテイン 1b α 遺伝子の 1018 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、1018 位塩基が C であるグリコプロテイン 1b α 遺伝子において 1018 位塩基を含む部分 DNA 領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー及び／又は 1018 位塩基が T であるグリコプロテイン 1b α 遺伝子において 1018 位塩基を含む部分 DNA 領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、グリコプロテイン 1b α 遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、からなる核酸セット。

以上では、(5)～(8)からなるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成しているが、(5)～(8)の中から二つ以上を任意に選択してグループとし、かかるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成してもよい。例えば(5)、(7)、及び(8)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が上位 3 位まで

の多型を解析するための核酸)より二つ以上の核酸を選択してキットを構成することができる。

以下の(1)～(4)からなるグループより選択される二つ以上の核酸セットを含んでなる遺伝子型検出用キット、

(1)1648 位塩基が A であるグリコプロテイン Ia 遺伝子のアンチセンス鎖において 1648 位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第 1 の標識物質で標識された第 1 核酸と、1648 位塩基が G であるグリコプロテイン Ia 遺伝子のアンチセンス鎖において 1648 位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第 2 の標識物質で標識された第 2 核酸と、及びグリコプロテイン Ia 遺伝子のセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第 1 核酸又は前記第 2 核酸とともに使用されてグリコプロテイン Ia 遺伝子の 1648 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅することが可能な第 3 核酸と、からなる核酸セット、

(2)190 位塩基が G であるケモカイン受容体 2 遺伝子のセンス鎖において 190 位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第 1 の標識物質で標識された第 1 核酸と、190 位塩基が A であるケモカイン受容体 2 遺伝子のセンス鎖において 190 位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第 2 の標識物質で標識された第 2 核酸と、及びケモカイン受容体 2 遺伝子のアンチセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第 1 核酸又は前記第 2 核酸とともに使用されてケモカイン受容体 2 遺伝子の 190 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅することが可能な第 3 核酸と、からなる核酸セット、

(3)アポリポプロテイン C-III 遺伝子の 1100 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅するように設計された第 1 核酸及び第 2 核酸と、1100 位が C であるアポ

リポプロテイン C-III 遺伝子を鋳型として前記第 1 核酸及び前記第 2 核酸を用いて増幅される核酸に対して特異的にハイブリダイズし且つ第 1 の標識物質で標識された第 3 核酸と、及び 1100 位が T であるアポリポプロテイン C-III 遺伝子を鋳型として前記第 1 核酸及び前記第 2 核酸を用いて増幅される核酸に対して特異的にハイブリダイズし且つ第 2 の標識物質で標識された第 4 核酸と、からなる核酸
5 セット、

(4) 825 位塩基が C である G-タンパク質 β 3 サブユニット遺伝子のアンチセンス鎖において 825 位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第 1 の標識物質で標識された第 1 核酸と、825 位塩基が T である G-タンパク質 β
10 3 サブユニット遺伝子のアンチセンス鎖において 825 位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第 2 の標識物質で標識された第 2 核酸と、及び G-タンパク質 β 3 サブユニット遺伝子のセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第 1 核酸又は前記第 2 核酸とともに使用されて G-タンパク質 β 3 サブユニット遺伝子の 825 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に
15 増幅することが可能な第 3 核酸と、からなる核酸セット。

以上では、(1)～(4)からなるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成しているが、(1)～(4)の中から二つ以上を任意に選択してグループとし、かかるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成してもよい。例えば(2)～(4)からなるグループ(後述の実施例においてオッズ比が上位 3 位までの多型を
20 解析するための核酸)より二つ以上の核酸を選択してキットを構成することができる。

以下の(5)～(8)からなるグループより選択される二つ以上の核酸セットを含んでなる遺伝子型検出用キット、

25 (5)-850 位塩基が C である腫瘍壊死因子 α 遺伝子のセンス鎖において-850 位塩

基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第 1 の標識物質で標識された第 1 核酸と、-850 位塩基が T である腫瘍壊死因子 α 遺伝子のセンス鎖において-850 位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第 2 の標識物質で標識された第 2 核酸と、及び腫瘍壊死因子 α 遺伝子のアンチセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第 1 核酸又は前記第 2 核酸とともに使用されて腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-850 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅することが可能な第 3 核酸と、からなる核酸セット、

(6)-238 位塩基が G である腫瘍壊死因子 α 遺伝子のセンス鎖において-238 位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第 1 の標識物質で標識された第 1 核酸と、-238 位塩基が A である腫瘍壊死因子 α 遺伝子のセンス鎖において-238 位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第 2 の標識物質で標識された第 2 核酸と、及び腫瘍壊死因子 α 遺伝子のアンチセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第 1 核酸又は前記第 2 核酸とともに使用されて腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-238 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅することが可能な第 3 核酸と、からなる核酸セット、

(7) 3494 位塩基が G であるインスリン受容体サブストレート 1 遺伝子のアンチセンス鎖において 3494 位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第 1 の標識物質で標識された第 1 核酸と、3494 位塩基が A であるインスリン受容体サブストレート 1 遺伝子のアンチセンス鎖において 3494 位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第 2 の標識物質で標識された第 2 核酸と、及びインスリン受容体サブストレート 1 遺伝子のセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第 1 核酸又は前記第 2 核酸とともに使用されてインスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の 3494 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅することが可能な第 3 核酸と、からなる核酸セット、及び

(8) 1018 位塩基が C であるグリコプロテイン Ib α 遺伝子のアンチセンス鎖にお

いて 1018 位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第 1 の
標識物質で標識された第 1 核酸と、1018 位塩基が T であるグリコプロテイン 1b
 α 遺伝子のアンチセンス鎖において 1018 位塩基を含む部分領域、に対して特異
的にハイブリダイズし且つ第 2 の標識物質で標識された第 2 核酸と、及びグリコ
5 プロテイン 1b α 遺伝子のセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズ
し且つ前記第 1 核酸又は前記第 2 核酸とともに使用されてグリコプロテイン 1b
 α 遺伝子の 1018 位塩基を含む部分 DNA 領域を特異的に増幅することが可能な第
3 核酸と、からなる核酸セット。

以上では、(5)～(8)からなるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを
10 構成しているが、(5)～(8)の中から二つ以上を任意に選択してグループとし、か
かるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成してもよい。例えば(5)、
(7)、及び(8)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が上位 3 位まで
の多型を解析するための核酸）より二つ以上の核酸を選択してキットを構成する
ことができる。

15

以上の各キットにおいては、キットの使用方法に応じた一又は二以上の試薬（バ
ッファー、反应用試薬、検出用試薬など）などを組み合わせてもよい。

以下、実施例を用いて本発明をより詳細に説明する。

20 <実施例 1> 遺伝子多型の選択

PubMed[National Center for Biological Information (NCBI)], Online Mend
elian inheritance in Men (NCBI), Single Nucleotide Polymorphism (NCBI)な
どの数種類の公的データベースを用いて、今までに報告された遺伝子の中から血管生
物学、血小板・白血球生物学、凝固線溶系、脂質・糖・その他の代謝因子などの総合的
25 側面から冠動脈硬化、冠動脈攣縮、高血圧、糖尿病、高脂血症などとの関連が推

定される 71 遺伝子を抜粋した。さらにこれらの遺伝子に存在する多型の中でプロモーター領域やエクソンに存在するもの、あるいはスプライスドナー部位やアクセプター部位に位置し、遺伝子産物の機能変化との関連が予想されるものを中心に 112 多型を選択した（図 1 及び図 2）。

5

＜実施例 2＞ 遺伝子多型の決定

対象は 1994 年 7 月から 2001 年 12 月の間に参加 15 施設を受診（または入院）した日本人 1940 例（男性 1107 例、女性 833 例）である。高血圧例は 1067 例（男性 574 例、女性 493 例）で、収縮期血圧 ≥ 140 mmHg または拡張期血圧 ≥ 90 mmHg、
10 あるいはその両方、であるか降圧薬を服用している症例である。冠動脈疾患、心臓弁疾患、先天性心血管疾患、または腎疾患・内分泌疾患など二次性高血圧を来す疾患を有する症例は除外した。対照は正常血圧（収縮期血圧 < 140 mmHg、拡張期血圧 < 90 mmHg）の 873 例（男性 533 例、女性 340 例）で、従来の冠動脈疾患危険因子、即ち喫煙（1 日 10 本以上）、肥満（body mass index > 26 kg/m²）、糖尿病
15 （空腹時血糖 > 126 mg/dL またはヘモグロビン A1c $> 6.5\%$ 、あるいはその両方）、高脂血症（血清総コレステロール > 220 mg/dL）、高尿酸血症（男性では血清尿酸 > 7.7 mg/dL、女性では血清尿酸 > 5.5 mg/dL）の少なくとも一つを有するが冠動脈疾患を有しない症例である。これらの対照は安静時心電図が正常であり、運動負荷試験でも心筋の虚血性変化は認められなかった。血圧はアメリカ心臓協会のガイドラインに従い、座位で測定した（Perloff D, Grim C, Flack J, Frohlich ED, Hill M, McDonald M, Morgenstern BZ. Human blood pressure determination by sphygmomanometry. Circulation. 1993;88:2640-2470.）。

20

それぞれの対象から静脈血 7 mL を 50 mmol/L EDTA-2Na を含むチューブに採血
25 し、ゲノム DNA を DNA 抽出キット（Qiagen, Chatsworth, CA）を用いて抽出した。一塩

基多型の遺伝子型の決定は蛍光・発光法によるアリルト異的プライマー・プローブ測定システム（東洋紡ジーンアナリシス、敦賀、日本）により行った（図3）。多型部位を含むDNA断片は5'末端に fluorescein isothiocyanate (FITC) または Texas red (TxR) で標識した2種類のアリルト異的センス（またはアンチセンス）プライマーと5'末端をビオチンで標識したアンチセンス（またはセンス）プライマーを用いて polymerase chain reaction (PCR) により増幅した。また別法として、多型部位を含むDNA断片は2種類のアリルト異的センス（またはアンチセンス）プライマーと5'末端をビオチンで標識したアンチセンス（またはセンス）プライマーを用いて、またはセンスプライマーと5'末端をビオチンで標識したアンチセンスプライマーを用いて PCR により増幅した。反応溶液（25

10 μ L）には 20 ng の DNA、5 pmol の各プライマー、0.2 mmol/L の各デオキシヌクレオシド三リン酸、1-4 mmol/L の塩化マグネシウム、1 U の DNA ポリメラーゼ（rTaq or KODplus; 東洋紡、大阪、日本）を含み、それぞれの DNA ポリメラーゼ緩衝液を用いた。増幅プロトコールは初期変性が 95°C で 5 分、35-45 サイクルで変性が 95°C で 30 秒、アニーリングが 55-67.5°C で 30 秒、伸張が 72°C で 30 秒、そして最終伸張が 72°C で 2 分とした。

15 蛍光法による遺伝子型の決定では、増幅した DNA を 96 穴プレートの各ウェルでストレプトアビジン結合磁気ビーズを含む溶液中で室温インキュベートした。このプレートを磁気スタンド上に置き、各ウェルから上清を採取し、0.01 M NaOH を含む 96 穴プレートの各ウェルに移した後、マイクロプレートリーダーにより FITC は励起・蛍光波長が 485 と 538 nm、TxR は励起・蛍光波長が 584 と 612 nm で蛍光を測定した。また発光法による遺伝子

20 型の決定では、増幅した DNA を 0.3 M NaOH で変性させ、96 穴プレートの各ウェルの底面に固定したいずれかのアリルト異的補足プローブと 35-40% ホルムアミドを含むハイブリダイゼーション緩衝液で 37°C、30 分間ハイブリダイゼーションを行った。ウェルを十分に洗浄した後、アルカリフォスファターゼ結合ストレプトアビジンを各ウェルに加え、プレートを 37°C、15 分間振盪した。ウェルを再度洗浄し、0.8 mM 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium (monosodium salt) と 0.4 mM 5-b

25

romo-4-chloro-3-indolyl phosphate p-toluidine salt を含む溶液を加えた後、450 nm
での吸光度を測定した。

本方法による遺伝子型決定の精度を確認するために、50 人の DNA サンプルを無作為に
5 選び PCR-制限酵素断片長多型法または PCR 産物の直接塩基配列決定法を行った。いずれ
のサンプルにおいてもアリル特異的プライマー・プローブ測定システムにより決定された
遺伝子型は PCR-制限酵素断片長多型法または DNA 塩基配列決定法によって決定されたも
のと同じであった。

- 10 以下の関連解析における統計解析は次のように行った。臨床データは高血圧例と対照と
の間で unpaired Student' s t test または Mann-Whitney U test を用いて比較した。定
性的データは chi-square test で検定した。アリル頻度は gene counting method により
推定し、Hardy-Weinberg 平衡から逸脱しているかどうかは chi-square test によって検
定した。本発明者らは危険因子を補正した多項ロジスティック回帰分析を行った。高血圧
15 を従属因子とし、年齢、body mass index (BMI)、喫煙状況 (0 = 非喫煙, 1 = 喫煙)、代
謝因子 (0 = 糖尿病・高コレステロール血症・高尿酸血症の経歴なし、1 = 経歴あり)、各
多型の遺伝子型を独立因子とした。それぞれの遺伝子型は dominant (優性)、recessive
(劣性)、additive (付加) 遺伝モデルで解析し、P 値、オッズ比、95%信頼区間を算出し
た。組み合わせ遺伝子型解析では、ロジスティック回帰分析の stepwise forward select
20 ion method によりそれぞれの遺伝子型についてのオッズ比を算出した。

<実施例 3> 高血圧に関連する多型の選択、及び高血圧リスク診断法の開発

- 本発明者らは先の報告において 71 候補遺伝子 112 多型と心筋梗塞との関連解析を男性
451 例 (心筋梗塞 219 例、対照 232 例) と女性 458 例 (心筋梗塞 226 例、対照 232 例) に
25 ついて行った (Yamada Y, Izawa H, Ichihara S, et al. Prediction of risk of myocard

ial infarction from polymorphisms in candidate genes. N Engl J Med. in press.)。この研究により男性で 19 個、女性で 18 個の一塩基多型が心筋梗塞発症と関連することを見出したが、それらの多型群の中には高血圧の候補遺伝子も含まれていた（図 1、図 2、図 4 を参照）。本実施例ではこれらの一塩基多型と高血圧との関連について 1940 例の大規模
5 関連解析を行った。

検討した全対象 1940 例（男性 1107 例、女性 833 例）の背景データを図 5 に示す。男性では、年齢、BMI、高尿酸血症の頻度、血清クレアチニン濃度および収縮期・拡張期血圧が対照に比較し高血圧例で有意に高く、喫煙の頻度が対照に比較し高血圧例で有意に低かった。女性では、年齢、BMI、高コレステロール血症と高尿酸血症の頻度および収縮期・
10 拡張期血圧が対照に比較し高血圧例で有意に高かった。

男性 19 多型、女性 18 多型と高血圧との関連解析において、年齢、BMI、および喫煙、糖尿病、高コレステロール血症、高尿酸血症の頻度を補正した多項ロジスティック回帰分析により男女それぞれ 4 個の多型が高血圧罹患と有意な関連を示した (dominant または recessive 遺伝モデルのいずれかが $P < 0.05$) (図 6)。これらの多型の遺伝子型分布を（図 7）に示す。
15

本発明者らは多項ロジスティック回帰分析の stepwise forward selection method を行った（図 8）。本法では、図 6 に示したそれぞれの多型の高血圧との関連における P 値（より低い P 値）に基づいて dominant（優性）または recessive（劣性）遺伝モデルを採用した。これらの遺伝子の染色体上の遺伝子座を（図 8）に示す。
20

Tumor necrosis factor- α 遺伝子の -850C \rightarrow T と -238G \rightarrow A 多型は連鎖不平衡になかった [pairwise linkage disequilibrium coefficient, D' (D/D_{\max}), of -0.310, standardiz
25

ed linkage disequilibrium coefficient, r , of -0.020; $P = 0.613$, chi-square test].

Stepwise forward selection method により算出した組み合わせ遺伝子型による高血圧罹患のオッズ比を、男性は図 9 と図 11 (A) に、女性は図 10 と図 11 (B) に示す。男性では 4 個の多型の組み合わせ遺伝子型 (GPIa (1648A→G) 多型、CCR2 (190G→A) 多型、ApoC -III (1100C→T) 多型、GPβ3 (825C→T) 多型) により、最大のオッズ比が 5.34 となった (図 9、図 11 (A))。女性では 4 個の多型の組み合わせ遺伝子型 (TNFα (-850C→T) 多型、TNFα (-238G→A) 多型、IRS-1 (3494G→A) 多型、GPIbα (1018C→T) 多型) により、最大のオッズ比が 46.86 となった (図 10、図 11 (B))。

10 以上のように、多項ロジスティック回帰分析により男性で 4 個、女性で 4 個の一塩基多型が高血圧と関連した。即ち、本発明者らは男性で 19 個、女性で 18 個の一塩基多型と高血圧との関連について 1940 例の大規模関連解析を行い、男女それぞれに高血圧罹患と関連する多型を 4 個ずつ同定した。さらに、多項ロジスティック回帰分析の stepwise forward selection method により男性では最大オッズ比 5.34、女性では最大オッズ比 46.86
15 を呈する組み合わせ遺伝子型を用いた高血圧の遺伝子リスク診断法を開発した。

血圧は、血管の構造や緊張性および体液の量と組成を調節する多様な生物システムの統合のみならず、これらのシステムの継続的に変化する生理的必要性に対する適応によって調節される (Lalouel J-M, Rohrwasser A. Development of genetic hypotheses in essential hypertension. J Hum Genet. 2001;46:299-306.)。本発明者らは血管生物学、血小板・白血球生物学、線溶系、脂質・糖・その他の代謝因子などの包括的視点に基づいて男性 19 個、女性 18 個の一塩基多型と高血圧との関連について検討した。実際、高血圧と関連した遺伝子群はその病態において多彩な役割を有していた。すなわち、血管生物学 (G-proteinβ3 subunit)、血管の炎症 (tumor necrosis factor-α)、単球・リンパ球生物学 (chemokine receptor 2)、血小板機能 (glycoprotein Ia and glycoprotein Ibα)、脂
25

質代謝 (apolipoproteins C-III)、インスリン・グルコース代謝 (insulin receptor substrate-1) などである。本発明者らの開発した遺伝子リスク診断システムは高血圧罹患の最大オッズ比が男性で 5.34、女性で 46.86 を呈し、とりわけ女性においては、今までに報告された大規模関連解析の中で最大のオッズ比を示した。高血圧と関連した 8 個の多型

5 の中で、腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-850C→T と-238G→A 多型が女性の高血圧リスクとして最大のオッズ比を示した。腫瘍壊死因子 α 遺伝子座はフランス系カナダ人において肥満に伴う高血圧と関連することが報告された (Pausova Z, Deslauriers B, Gaudet D, Tremblay J, Kotchen TA, Laroche P, Cowley AW, Hamet P. Role of tumor necrosis factor- α gene locus in obesity and obesity-associated hypertension in French Canadians. Hypertension. 2000;36:14-19.)。また腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-308A→G 多型は統計

10 的有意差はないが本態性高血圧と関連する傾向が認められた (Frossard PM, Gupta A, Pravica V, Perry C, Hutchinson IV, Lukic ML. A study of five human cytokine genes in human essential hypertension. Mol Immunol. 2002;38:969-976.)。カナダ原住民においては、血清腫瘍壊死因子 α 濃度は収縮期血圧とインスリン抵抗性に関連することが報告

15 された (Zinman B, Hanley AJG, Harris SB, Kwan J, Fantus IG. Circulating tumor necrosis factor- α concentrations in a native Canadian population with high rates of type 2 diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab. 1999;84:272-278.)。腫瘍壊死因子 α はさらに強力な血管収縮物質であるエンドセリン-1 の産生を促進し (Kahaleh MB, Fan PS. Effect of cytokines on the production of endothelin by endothelial cells. Clin Exp Rheumatol. 1997;15:163-167.)、血清中の両物質の濃度は正の相関を有することが肥満例で示された (Winkler G, Lakatos P, Salamon F, Nagy Z, Speer G, Kovacs M, Harnos G, Dworak O, Cseh K. Elevated serum TNF- α level as a link between endothelial dysfunction and insulin resistance in normotensive obese patients. Diabetes Med. 1999;16:207-211.)。これらの知見および本発明者らの上記結果から、腫瘍壊

20 死因子 α 遺伝子は高血圧感受性遺伝子座の候補である。他の 6 個の多型の中で、G-タンパ

25

ク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子の825C→T多型は高血圧と関連することが報告されている(Siffert W, Rosskop D, Siffert G, Busch S, Moritz A, Erbel R, Sharma AM, Ritz E, Wilmann H-E, Jakobs KH, Horsthemke B. Association of a human G-protein $\beta 3$ subunit variant with hypertension. *Nat Genet.* 1998;18:45-48.)。またアポリポプロテイン C-III 遺伝子多型は血圧に関連することが報告されている (Tas S, Abdella NA. Blood pressure, coronary artery disease, and glycaemic control in type 2 diabetes mellitus: relation to apolipoprotein-CIII gene polymorphism. *Lancet.* 1994;343:1994-1995.)。ケモカイン受容体 2 遺伝子とインスリン受容体サブストレート 1 遺伝子は高血圧の病態に関与することが示されている (Bush E, Maeda N, Kuziel WA, Dawson TC, Wilcox JN, DeLeon H, Taylor WR. CC chemokine receptor 2 is required for macrophage infiltration and vascular hypertrophy in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension.* 2000;36:360-363.、Abe H, Yamada N, Kamata K, Kuwaki T, Shimada M, Osuga J, Shionoiri F, Yahagi N, Kadowaki T, Tamemoto H, Ishibashi S, Yazaki Y, Makuuchi M. Hypertension, hypertriglyceridemia, and impaired endothelium-dependent vascular relaxation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *J Clin Invest.* 1998;101:1784-1788.)。さらに、血小板の活性化は本態性高血圧の病態において役割を有することが報告されている (Andrioli G, Ortolani R, Fontana L, Gaino S, Bellavite P, Lechi C, Minuz P, Manzato F, Tridente G, Lechi A. Study of platelet adhesion in patients with uncomplicated hypertension. *J Hypertens.* 1996;14:1215-1221.、Dockrell ME, Walker BR, Noon JP, Watt GC, Williams BC, Webb DJ. Platelet aggregation in young men contrasting predisposition to high blood pressure. *Am J Hypertens.* 1999;12:115-119.、Berezski C, Tur S, Nemeth I, Sallai E, Torday C, Nagy E, Haszon I, Papp F. The roles of platelet function, thromboxane, blood lipids, and nitric oxide in hypertension of children and adolescents. *Prostaglandins Leukot Essential Fatty Acids.* 2000;62:293-297.)。グリコプロテイン Ia とグリコプロテイン Ib α 遺伝

子の多型は冠動脈疾患と関連することが報告されているが (Kroll H, Gardemann A, Fechter A, Haberbosch W, Santoso S. The impact of the glycoprotein Ia collagen receptor subunit A1648G gene polymorphism on coronary artery disease and acute myocardial infarction. Thromb Haemost. 2000;83:392-396., Murata M, Matsubara Y, Kawano K, et al. Coronary artery disease and polymorphisms in a receptor mediating shear stress-dependent platelet activation. Circulation. 1997;96:3281-6.), これらの多型と高血圧との関連は報告されていない。

本実施例で検討した多型のいくつかは、その近傍に存在する高血圧発症と真に関連する遺伝子の多型と連鎖不平衡にある可能性がある。しかしながら、著者らの結果は、グリコ
10 プロテイン Ia、ケモカイン受容体 2 遺伝子、アポリポプロテイン C-III 遺伝子、G-タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子が日本人男性において、腫瘍壊死因子 α 遺伝子、インスリン受容体サブストレート 1 遺伝子、グリコプロテイン Ib α 遺伝子が日本人女性において高血圧感受性遺伝子座であることを示した。さらに、これらの遺伝子多型の組み合わせ遺
15 伝子型は高血圧の遺伝的リスク診断に有用であることも示した。本発明者らの遺伝子診断法は高血圧の一次予防のみならず高血圧が原因で生じる心血管疾患、脳卒中、腎疾患などの予防にも貢献できると考えられる。

この発明は、上記発明の実施の形態及び実施例の説明に何ら限定されるものではない。
20 特許請求の範囲の記載を逸脱せず、当業者が容易に想到できる範囲で種々の変形態様もこの発明に含まれる。

産業上の利用の可能性

本発明によれば高血圧に関連する遺伝子多型が解析され、そして核酸試料の遺伝子型が
25 検出される。この遺伝子型の検出によって得られる多型情報を用いることにより、高精度

で予知確率の高い高血圧のリスク診断を行うことができる。したがって、本発明は高血圧の発症リスクを事前に知る有効な手段となり、高血圧の一次予防はもちろんのこと高血圧が原因で生じる心血管疾患、脳卒中、腎疾患などの予防への貢献が期待できる。また、本発明によれば高血圧の診断に有用な補助的情報が得られ、より適切な治療を可能とし予後の改善などを図ることができる。更に本発明は高血圧の発症メカニズムを解明する上での有効な情報を提供することから、高血圧の予防法の確立にとって極めて重要な一手段ともなる。

請 求 の 範 囲

1. 以下の工程(a)を含んでなる、核酸試料の遺伝子型を検出する方法、

(a) 核酸試料における、以下の(1)～(4)からなるグループより選択される二つ

5 以上の多型を解析する工程、

(1)グリコプロテイン Ia 遺伝子の塩基番号 1648 位の多型、

(2)ケモカイン受容体 2 遺伝子の塩基番号 190 位の多型、

(3)アポリポプロテイン C-III 遺伝子の塩基番号 1100 位の多型、及び

(4)G-タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子の塩基番号 825 位の多型。

10

2. 以下の工程(b)を含んでなる、核酸試料の遺伝子型を検出する方法、

(b) 核酸試料における、以下の(5)～(8)からなるグループより選択される二つ

以上の多型を解析する工程、

(5)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-850 位の多型、

15

(6)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-238 位の多型、

(7)インスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の塩基番号 3494 位の多型、及び

び

(8)グリコプロテイン Ib α 遺伝子の塩基番号 1018 位の多型。

20

3. 以下の工程(i)～(iii)を含んでなる、高血圧のリスク診断方法、

(i)核酸試料における、以下の(1)～(4)からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程、

(1)グリコプロテイン Ia 遺伝子の塩基番号 1648 位の多型、

(2)ケモカイン受容体 2 遺伝子の塩基番号 190 位の多型、

25

(3)アポリポプロテイン C-III 遺伝子の塩基番号 1100 位の多型、及び

(4) G-タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子の塩基番号 825 位の多型、

(ii) 前記工程によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び

(iii) 決定された遺伝子型から高血圧の遺伝的リスクを求める工程。

5

4. 以下の工程 (iv) ~ (vi) を含んでなる、高血圧のリスク診断方法、

(iv) 核酸試料における、以下の (5) ~ (8) からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程、

(5) 腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-850 位の多型、

10 (6) 腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-238 位の多型、

(7) インスリン受容体サブストレート 1 遺伝子の塩基番号 3494 位の多型、及び

(8) グリコプロテイン 1b α 遺伝子の塩基番号 1018 位の多型、

15 (v) 前記工程によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び

(vi) 決定された遺伝子型から高血圧の遺伝的リスクを求める工程。

5. 以下の (1) ~ (4) からなるグループより選択される二つ以上の核酸を含んでなる遺伝子型検出用キット、

20 (1) グリコプロテイン 1a 遺伝子の塩基番号 1648 位の多型を解析するための核酸、

(2) ケモカイン受容体 2 遺伝子の塩基番号 190 位の多型を解析するための核酸、

(3) アポリポプロテイン C-III 遺伝子の塩基番号 1100 位の多型を解析するための核酸、及び

25 (4) G-タンパク質 $\beta 3$ サブユニット遺伝子の塩基番号 825 位の多型を解析するための核酸。

6. 以下の(5)～(8)からなるグループより選択される二つ以上の核酸を含んでなる遺伝子型検出用キット、

(5)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-850位の多型を解析するための核酸、

5 (6)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-238位の多型を解析するための核酸、

(7)インスリン受容体サブストレート1遺伝子の塩基番号3494位の多型を解析するための核酸、及び

(8)グリコプロテインIb α 遺伝子の塩基番号1018位の多型を解析するための核酸。

10

7. 以下の(1)～(4)からなるグループより選択される二つ以上の核酸が不溶性支持体に固定されてなる固定化核酸、

(1)グリコプロテインIa遺伝子の塩基番号1648位の多型を解析するための核酸、

(2)ケモカイン受容体2遺伝子の塩基番号190位の多型を解析するための核酸、

15 (3)アポリポプロテインC-III遺伝子の塩基番号1100位の多型を解析するための核酸、及び

(4)G-タンパク質 β 3サブユニット遺伝子の塩基番号825位の多型を解析するための核酸。

20 8. 以下の(5)～(8)からなるグループより選択される二つ以上の核酸が不溶性支持体に固定されてなる固定化核酸、

(5)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-850位の多型を解析するための核酸、

(6)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-238位の多型を解析するための核酸、

25 (7)インスリン受容体サブストレート1遺伝子の塩基番号3494位の多型を解析するための核酸、及び

(8)グリコプロテイン Ib α 遺伝子の塩基番号 1018 位の多型を解析するための核酸。

Fig. 1

遺伝子	多型	遺伝子	多型
アンギオテンシン変換酵素	I/D in intron 16	インスリン受容体サブストレート 1	3494G→A (Gly972Arg)
アンギオテンシン II タイプ I 受容体	-535C→T	インターロイキン 10	-1082G→A
アンギオテンシンノーゲン	-6G→A		-819T→C
アポリipoprotein AI	-75G→A		-592A→C
	83C→T	インターロイキン 1α	-889C→T
アポリipoprotein B	I/D in signal peptide	インターロイキン 1β	-511C→T
アポリipoprotein C-III	-482C→T		3953C→T
	1100C→T	インターロイキン 6	-634C→G
アポリipoprotein E	-491A→T		-174G→C
	-219G→T	LDL 受容体関連タンパク質	766C→T
	3932T→C (Cys112Arg)	レプチン	-1887C→A
アポリipoprotein(a)	4070C→T (Arg158Cys)	リポprotein リパーゼ	280G→A (Asp9Asn)
	93C→T		1127A→G (Asn291Ser)
	121G→A	マンガンスーパーオキシドジスムターゼ	47C→T (Ala16Val)
ATP 結合カセットトランスポーター 1	11764A→C (Thr12Pro)	マトリックス Glc タンパク質	173T→C (Ile58Thr)
	-477C→T		-7G→A
心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP)	1051G→A (Arg219Lys)	メタprotein 1 (コラゲナーゼ)	7158A→G (Thr83Ala)
ANP クリアランス受容体	664G→A (Val7Met)	メタprotein 12	-1607G→GG
	-55A→C	(マクロファージ エラスターゼ)	-82A→G
β2-アドレナリン受容体	46A→G (Arg16Gly)	メチオニンシターゼ	2756A→G (Asp919Gly)
	79C→G (Gln27Glu)	メチレンテトラヒドロ葉酸リダクターゼ	677C→T (Ala222Val)
β3-アドレナリン受容体	491C→T (Thr164Ile)	単球ケモカイン誘引タンパク (MCP) 1	-2518G→A
β-フィブリノーゲン	190T→C (Trp64Arg)	NADH/NADPH オキシダーゼ p22 フォックス	242C→T (His72Tyr)
	-854G→A	ニューロペプチド Y	1128T→C (Leu7Pro)
	-455G→A	パラオキシナーゼ	-107T→C
	148C→T		172A→T (Met55Leu)
CD14 受容体	8059G→A (Arg448Lys)		584G→A (Gln192Arg)
	-260C→T	PECAM1 (CD31)	1454C→G (Leu125Val)

Fig.3

遺伝子	一塩基多型	標識	プライマー	回数	プローブ	ホルミアミド
G-タンパク質β3サブユニット	825C→T	TxR FITC Biotin	TCTGCGGCATCAGTXXGG TCTGCGGCATCAGTXXIG GAATAGTAGGGGCCACTGA	35		
アポリipoprotein C-III	1100C→T	Biotin	CCTTCTCAGCTTTCATGCAGG GTCTGTGGCGGTGCTTCA	35	CAGCTTTCATGCGGGGTACA CAGCTTTCATGCGGGGTACA	35%
ケモカイン受容体2	190G→A	FITC TxR Biotin	GCAGTTTATTAAGATGAGGXGG TTGCAGTTTATTAAGATGAGGXIG GGTGCTCCCTGTCATAAATTGA	40		
グリコipoprotein Ia	1648A→G	FITC TxR Biotin	GAGTCTAOCCTGTTTACTATCAAXAA GAGTCTAOCCTGTTTACTATCAAXGA ACCACTACTAAAGCAAATTAAACT	40		
腫瘍壊死因子α	-850C→T	Biotin	TCTACATGGCCCTGCTCTXGT CTCTACATGGCCCTGCTCTXAT CTCTACATGGCCCTGCTCTTAT	35	ACATGGCCCTGCTCTXGTAAAG ACATGGCCCTGCTCTXATTAAG	30%
腫瘍壊死因子α	-238G→A	FITC TxR Biotin	CCCCATCCTCCCTGCTXXGG CCCCATCCTCCCTGCTXXIG AGTCAGTGGCCCGAGAGAGACC	40		
インスリン受容体サブストレート1	3494G→A	Biotin	GGGCCCTGACACCTCCXGG GGGCCCTGACACCTCCXAG GGGTAGGCCCTGCAAATGCTA	40	CACCTCCXGGGCTGCTAG CACCTCCXAGGCTGCTAG	35%
グリコipoprotein Ibα	1018C→T	FITC TxR Biotin	CCCGAGGGCTCCTGXGG CCCGAGGGCTCCTGXIG TGAGCTTCTCCAGCTTGGGTG	40		

Fig.4

遺伝子	多型	遺伝子	多型
男性			
アンギオテンシンノーゲン	-6G→A	アポリプロテインC-III	-482C→T
アポリプロテインC-III	-482C→T	アポリプロテインE	3932T→C
アポリプロテインC-III	1100C→T	アポリプロテインE	4070C→T
アポリプロテインE	-219G→T	ATP-結合カセットトランスポーター1	1051G→A
アポリプロテインE	4070C→T	CD14受容体	-260C→T
ケモカイン受容体2	190G→A	コネキシン37	1019C→T
コネキシン37	1019C→T	E-セレクチン	561A→C
内皮型一酸化窒素合成酵素	-786T→C	内皮型一酸化窒素合成酵素	-786T→C
G-タンパク質β3サブユニット	825C→T	エンドセリン1	5665G→T
グリコプロテインIa	1648A→G	脂肪酸結合タンパク2	2445G→A
インターロイキン10	-819T→C	グリコプロテインIbα	1018C→T
インターロイキン10	-592A→C	インスリン受容体サブストレート1	3494G→A
NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス	242C→T	インターロイキン6	-634C→G
血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ	994G→T	パラオキシナーゼ	584G→A
トロンボモジュリン	2136C→T	プラスミノーゲン活性化因子インヒビター1	-668/4G→5G
トロンボポイエチン	5713A→G	ストロメライシン1	-1171/5A→6A
トロンボスポンジン4	1186G→C	腫瘍壊死因子α	-850C→T
トランスフォーミング増殖因子β1	869T→C	腫瘍壊死因子α	-238G→A
腫瘍壊死因子α	-863C→A		

女性

Fig.5

	男性 (n = 1107)		女性 (n = 833)	
	対照 (n = 533)	高血圧例 (n = 574)	対照 (n = 340)	高血圧例 (n = 493)
年齢 (years)	56.3 ± 11.0	59.6 ± 10.1*1	56.8 ± 11.4	62.6 ± 10.5*1
Body mass index (kg/m ²)	23.2 ± 2.7	23.9 ± 2.7*2	22.2 ± 2.9	23.6 ± 3.4*1
喫煙 (%)	58.5	47.6†	10.6	8.5
収縮期血圧 (mmHg)	121 ± 13	161 ± 27*1	118 ± 15	164 ± 26*1
拡張期血圧 (mmHg)	72 ± 10	92 ± 16*1	68 ± 10	90 ± 16*1
糖尿病 (%)	15.6	19.5	12.1	16.6
高コレステロール血症 (%)	29.8	34.7	41.8	54.6*2
高尿酸血症 (%)	13.9	21.1*3	6.5	13.0*3
血清クレアチニン (mg/dL)	0.92 ± 0.22	1.02 ± 0.45*1	0.71 ± 0.19	0.73 ± 0.34

Fig. 6

遺伝子	多型	Dominant		Recessive		Additive	
		P	オッズ比 (95%信頼区間)	P	オッズ比(95%信頼区間)	P	オッズ比(95%信頼区間)
男性							
ケモカイン受容体2	190G→A	0.0471	1.3 (1.0-1.6)	0.0151	1.8 (1.1-2.8)	0.0077	1.9 (1.2-3.0)
G-タンパク質β3サブユニット	825C→T	0.0235	1.4 (1.0-1.8)	0.0342	1.4 (1.0-1.8)	0.0075	1.6 (1.1-2.3)
グリコプロテインIa	1648A→G	0.7058		0.0266	0.6 (0.4-0.9)	0.7037	
アポリポプロテインC-III	1100C→T	0.5137		0.0373	0.8 (0.6-1.0)	0.1592	
女性							
腫瘍壊死因子α	-238G→A	0.0054	0.3 (0.1-0.7)	0.6903		0.0349	0.3 (0.2-0.9)
腫瘍壊死因子α	-850C→T	0.3200		0.0354	5.0 (1.4-32.2)	0.0336	5.1 (1.4-32.9)
インスリン受容体サブストレート1	3494G→A	0.0462	2.5 (1.1-6.6)	0.8127		0.0631	
グリコプロテインIbα	1018C→T	0.0484	0.7 (0.5-1.0)	0.3777		0.0215	0.6 (0.4-0.9)

Fig. 7

遺伝子	多型	遺伝子型分布 (%)			
		対照		高血圧例	
男性					
ケモカイン受容体2 G-タンパク質β3サブユニット グリコプロテインIa アポリポプロテインC-III	190G→A	GG (54.6)	GA (38.9)	AA (6.5)	GG (49.7) GA (40.1) AA (10.1)
	825C→T	CC (29.9)	CT (48.9)	TT (21.1)	CC (24.0) CT (50.7) TT (25.3)
	1648A→G	AA (0.0)	AG (6.6)	GG (93.4)	AA (0.4) AG (9.3) GG (90.3)
	1100C→T	CC (15.1)	CT (44.6)	TT (40.3)	CC (16.7) CT (49.3) TT (34.1)
女性					
腫瘍壊死因子α 腫瘍壊死因子α インスリン受容体サブストレート1 グリコプロテインIbα	-238G→A	GG (94.6)	GA (4.5)	AA (0.9)	GG (97.3) GA (2.7) AA (0.0)
	-850C→T	CC (75.3)	CT (24.1)	TT (0.6)	CC (71.9) CT (24.5) TT (3.6)
	3494G→A	GG (97.9)	GA (2.1)	AA (0.0)	GG (95.2) GA (4.4) AA (0.4)
	1018C→T	CC (74.5)	CT (23.7)	TT (1.8)	CC (79.7) CT (18.4) TT (1.9)

Fig. 8

遺伝子	遺伝子座	多型	遺伝モデル	オッズ比	95% 信頼区間
男性					
グリコプロテインIa	5q23-q31	1648A→G	GG versus AA + AG	0.56	0.35-0.91
ケモカイン受容体2	3p21	190G→A	AA versus GG + GA	1.65	1.04-2.60
アポリipoprotein C-III	11q23	1100C→T	TT versus CC + CT	0.73	0.57-0.95
G-タンパク質β3サブユニット	12p13	825C→T	CT + TT versus CC	1.32	0.99-1.74
女性					
腫瘍壊死因子α	6p21.3	-850C→T	TT versus CC + CT	4.63	1.02-20.93
腫瘍壊死因子α	6p21.3	-238G→A	GA + AA versus GG	0.28	0.12-0.66
インスリン受容体サブストレート1	2q36	3494G→A	GA + AA versus GG	2.10	0.83-5.30
グリコプロテインIbα	22q11.2	1018C→T	CT + TT versus CC	0.74	0.51-1.09

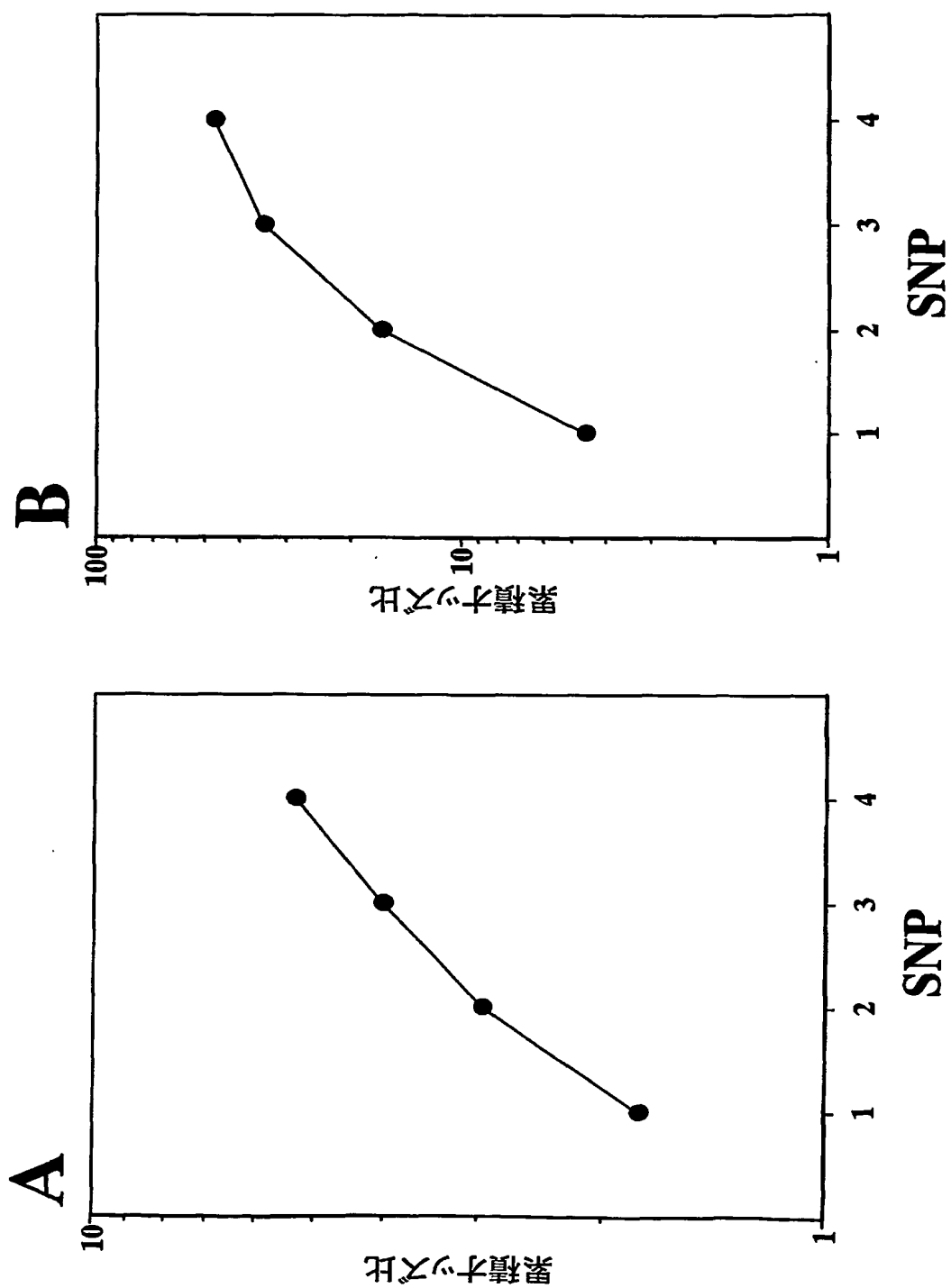
Fig. 9

グリコプロテインIa (0 = AA = AG, 1 = GG)	ケモカイン受容体2 (0 = GG = GA, 1 = AA)	アポリポロテインC-III (0 = CC = CT, 1 = TT)	G-タンパク質β3サブユニット (0 = CC, 1 = CT = TT)	オッズ 比
0	1	0	1	5.34
0	1	0	0	4.05
0	1	1	1	3.90
0	1	1	0	2.95
0	0	0	1	3.24
0	0	0	0	2.45
0	0	1	1	2.36
0	0	1	0	1.79
1	1	0	1	2.98
1	1	0	0	2.26
1	1	1	1	2.18
1	1	1	0	1.65
1	0	0	1	1.81
1	0	0	0	1.37
1	0	1	1	1.32
1	0	1	0	1.00

Fig. 1 0

腫瘍壊死因子 α (0 = CC = CT, 1 = TT)	Tu腫瘍壊死因子 α (0 = GG, 1 = GA = AA)	インスリン受容体サブストレート1 (0 = GG, 1 = GA = AA)	グリコプロテインIb α (0 = CC, 1 = CT = TT)	オッズ 比
1	0	1	0	46.86
1	0	1	1	34.71
1	0	0	0	22.31
1	0	0	1	16.53
1	1	1	0	13.13
1	1	1	1	9.72
1	1	0	0	6.25
1	1	0	1	4.63
0	0	1	0	10.12
0	0	1	1	7.50
0	0	0	0	4.82
0	0	0	1	3.57
0	1	1	0	2.84
0	1	1	1	2.10
0	1	0	0	1.35
0	1	0	1	1.00

Fig. 1 1



SEQUENCE LISTING

<110> NAGOYA INDUSTRIAL SCIENCE RESEARCH INSTITUTE
GIFU INTERNATIONAL INSTITUTE OF BIOTECHNOLOGY
YAMADA, Yoshiji
YOKOTA, Mitsuhiro

<120> Method for diagnosing a risk of hypertension

<130> C0200701

<150> JP P2002-280034

<151> 2002-09-25

<160> 36

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 5373

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

```
gaattcctgc aaaccagcg caactacggt ccccggtca gaccaggat ggggccagaa      60
cggacagggg ccgcgccgt gccgctgctg cgggttag cgctcagtc aggcatitca      120
aatgttgtt tggcctacaa tgttggtctc ccagaagcaa aaatatitc cgttccttca      180
agtgaacagt ttgggtatgc agtgcagcag ttataaaac caaaaggcaa ctggttactg      240
gttggttcac cctggagtgg ctttcctgag aaccgaatgg gagatgigta taaatgtcct      300
gttgacctat ccactgccac atgtgaaaaa ctaaattgc aaacttcaac aagcatcca      360
aatgttactg agatgaaaac caacatgagc ctgggttga tctcaccag gaacatggga      420
actggagggt ttctcacatg tggctctctg tgggcacagc aatgtgggaa tcagtattac      480
acaacgggtg tgtgttctga catcagtcct gatitcagc tctcagccag cttctcacct      540
gcaacacagc cctgcccttc cctcatagat gttgtggttg tgtgigtga atcaaatagt      600
atttatcctt gggatgcagt aaagaatttt ttggaaaaat ttgtacaagg ccttgatata      660
```

ggccccacaa agacacaggt ggggtlaatt cagtaigcca alaaticcaag agtigtgttt 720
aacttgaaca caataaaaac caaagaagaa atgattigiag caacatccca gacatcccaa 780
tatggtgggg acctcacaaa cacaticgga gcaatccaat atgcaagaaa atatgcctat 840
tcagcagctt ctggtgggag acgaagtgtc acgaaagtta tggtagttgt aacigacggt 900
gaatcacatg atggttcaat gttgaaagct gtgattgatc aatgcaacca tgacaatata 960
ctgaggtttg gcatagcagt tcttgggtac ttaaacagaa acgcccitga tactaaaaat 1020
ttaataaaag aaataaaagc gatcgctagt attccaacag aaagatactt ttccaatgtg 1080
tctgatgaag cagctctact agaaaaggct gggacattag gagaacaaat tttcagcatt 1140
gaaggtactg ttcaaggagg agacaacttt cagatggaaa tgcacaagt gggaticagt 1200
gcagattact cttctcaaaa tgataattctg atgctgggtg cagtgggagc ttttggctgg 1260
agtgggacca ttgtccagaa gacatctcat ggccatttga tctttcctaa acaagccttt 1320
gaccaaattc tgcaggacag aaatcacagt tcatatttag gtactctgt ggctgcaatt 1380
tctactggag aaagcactca ctttgttgtt ggtgtctctc gggcaaatta taccggccag 1440
atagtctat atagtgtgaa tgagaatggc aatacacgg itattcaggc tcaccgaggt 1500
gaccagattg gctcctatit tggtagtgig ctgtgticag ttgatgtgga taaagacacc 1560
attacagacg tgctcttggt aggtgcacca atgtacaiga gtgacctaaa gaaagaggaa 1620
ggaagagtct acctgtttac tatcaaaaag ggcattttgg gtcagcacca atttcttgaa 1680
ggccccgagg gcattgaaaa cactcgattt ggttcagcaa ttgcagctct ttcagacatc 1740
aacaiggaatg gctttaatga tgtatgtgtt ggttcaccac tagaaaatca gaattctgga 1800
gctgtataca ttacaatgg tcatcagggc actatccgca caaagtattc ccagaaaatc 1860
ttgggatccg atggagcctt taggagccat ciccagtact ttgggaggic ctiggatggc 1920
tatggagatt taaatgggga ttccatcacc gatgtgtcta ttgggtgcctt tggacaagt 1980

gttcaacict ggicacaaag taatgcigat gtagctatag aagcttcaat cacaccagaa 2040
aaaatcacit tggtaacaa gaatgctcag ataaticca aactcigcct cagtgcaaag 2100
ttcagaccia ctaagcaaaa caatcaagtg gccattglat ataacalcac acttgaigca 2160
gatggaitti catccagagt aacctccagg gggittaita aagaaaacaa tgaagggtgc 2220
ctgcagaaga atatggtagt aaatcaagca cagagtigcc ccgagcacat cattatata 2280
caggagccct ctgatitgt caactitttg gatttgcgtg tggacalcag tctggaaaac 2340
ccggcacta gccctgccct tgaagcctat tctgagactg ccaaggctct cagtaticct 2400
ttccacaaag acttgggtga ggaatggactt tgcatttcig atctagtcct agatgtccga 2460
caaataccag ctgctcaaga acaacccttt atgtcagca accaaaacaa aaggtaaca 2520
ttttcagtaa cactgaaaaa taaaagggaag agtgcataca aacttggaat tgitgttgat 2580
ttttcagaaa actgtttttt tgcattcttc tccctaccgg ttgatgggac agaagtaaca 2640
tgccagggtg ctgcatctca gaagtcgtt gccctcgatg taggctaccc tgctttaaag 2700
agagaacaac aggtgacttt tactattaac ttgacttca atcttcaaaa ccttcagaat 2760
caggcgtctc tcagtttcca agccttaagt gaaagccaag aagaaaacaa ggctgataat 2820
ttggtaacc tcaaaattcc tctccigtat gatgcigaaa ttactttaac aagatctacc 2880
aacataaatt ttatgaaat ctcttcggat gggaatgtc cttcaatcgt gcacagtttt 2940
gaagatgttg gtccaaaatt catcttctcc ctgaaggtaa caacaggaag tgitccagta 3000
agcatggcaa ctgtaatcat ccacatccct cagtatacca aagaaaagaa cccacigatg 3060
tacctaacgt gggtgcaaac agacaaggct ggtgacatca gttglaatgc agatatcaat 3120
ccactgaaaa taggacaaac atcttcttct gtatcttca aaagtgaaaa tttcaggcac 3180
accaaagaat tgaactgcag aactgcttcc tgiaglaatg ttacctgctg gttgaaagac 3240
gttcacatga aaggagaata cttigttaat gtagtacca gaatttgga cgggactttc 3300
gcatcatcaa cgttccagac agtacagcta acggcagctg cagaaatcaa cactataac 3360

ccigagalat atlgattga agataacact gitacgatic cccigatgat aatgaaacct 3420
gatgagaaag ccgaagiacc aacaggagti ataataggaa gtataattgc tggaaiccti 3480
ttgcigttag ctctggitgc aattttatgg aagctcggct tcttcaaaag aaaataigaa 3540
aagatgacca aaaatccaga tgagattgat gagaccacag agctcagtag ctgaaccagc 3600
agacctacci gcagtgggaa ccggcagcat cccagccagg gtttgcigt tgcgtgcatg 3660
gatttcttti taaatcccat attttttita tcatgtcgta ggtaaactaa cctggatatt 3720
taagagaaaa ctgcaggta gtttggatga agaaattgig gggggigggg gaggigcggg 3780
gggcaggtag ggaaataata gggaaaatc ctattttata tgaatgggga aaaaaagtaa 3840
tctttaact ggctggccca gagtttacct tctaatigc attgtgtcag aaacatgaaa 3900
tgcttccaag catgacaact tttaaagaaa aatatgatac tctcagattt taagggggaa 3960
aacgtttctc tttaaatai ttgtctttaa acagcaacta cagaagtgga agtgcttgat 4020
atgtaagtac ttccacttgi gtatatitta atgaatatg atgttaacaa gaggggaaaa 4080
caaacacag gttttttcaa ttatgtctgc tcatccaaag ttgccacaga tgatacttcc 4140
aagtataat ttatittata aactaggtaa aatttgttgi tggttccttt tataccacgg 4200
ctgccccctc cacaccccat ctgtctctaa tgatcaaac atgcttgaat aactgagctt 4260
agagtatacc tctatattgt ccatttaagt taggagagg ggcgatatag agactaaggc 4320
acaaaatttt gtttaaaact cagaatataa catttaigia aaatcccatc tgctagaagc 4380
ccatccctg cagaggaag gaaaaggagg aaatttctt tctcttttag gaggcacaac 4440
agttctcttc taggatttgi ttggctgact ggcagtaacc tagtgaattt ttgaaagatg 4500
agtaatttct ttggcaacct tccctctccc ttactgaacc actctccac ctcttggtgg 4560
taccattatt atagaagccc tctacagcct gattttctct ccagcggtcc aaagttaicc 4620
cctcttttac cctcatcca aagttccac tcttcagga cagctgctgt gcattagata 4680

tttagggggga aagtcaicig tttaatttac acactigcat gaattactgt atataaacic 4740
 ctttaactica gggagciatt ttcatitagt gctaaacaag taagaaaaat aagctagagt 4800
 gaatttctaa atgttggat gtatgggat gtaacaatg taaagtataa cacttcagg 4860
 atttaccag aagttacaga tgaggcactg gaaaccacca ccaaattagc aggtgcacti 4920
 tctgtggctg tctgttct gaagtiactt ttcttccaca agagtgaatt tgacctaggc 4980
 aagttgttc aaaaggtaga tcttgagatg atttggtcag atgggataa ggcccagcaa 5040
 tcigcatit aacaagcacc ccagtcacta ggaigcagat ggaccacact ttgagaaaca 5100
 ccacccattt ctacttttgg cacttattt tctctgttcc tgagcccca cattctctag 5160
 gagaaactta gattaaaatt cacagacact acatatctaa agctttgaca agtccttgac 5220
 ctctataaac tttagagctc tcattataaa atgggaagac tgagctggag tttagcagtg 5280
 atgcttttta gttttaaag tctatgatct gatctggact tctataata caaatacaca 5340
 atctccaag aatttgactt ggaaaaggaa ttc 5373

<210> 2

<211> 50000

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

aagcttcagt atgcaaatit tcaatgacat gtgcctgtgg attctgaaa ttacagatc 60
 tgtctatcct tagctgagac tgaaggcatc tacttccaa tgaccaaac ctggtgtgt 120
 ggcgacacig agcaggaact ccattagaat atcaatatca ctctgcagac attcattgat 180
 gtaagctatg ttctctctg ttgcaattac acttaattta ccaccagctg cttaattgtc 240
 atgggctatc ttgaaaaatg aagctccttt cgtagtcaaa ctggtgcaa gacacagcaa 300
 atgagaagti actaaattgt tggagtcctc atagctactg ctgctttta tgaacaaacc 360
 aattcttgat gcagggcata gttttccaaa ggagaaatca taaaaccatt tggaaatttg 420

atgaiccaa ggtccigalg algtggagcc acicctaigg gggtagctgt ggcittaaact 480
tigggggcaa ctttagagga ataaagtcic aaaaagaggg aataaagict caagattgtt 540
cgtgacccat agtaactict ggctaaaagg accaticggc aagtttttaa atgtatttc 600
tataatttcc atgtagtict ttatatittc tatttcctat ttaaaacctc tattttagct 660
cgtttccitt gacacigctc tggcagggaagg aggggtggca ctcctcatt actgccaggt 720
aggggtagaa gtcattatc cacttggctt ccattgatac ccaaagtggg gagaggctcc 780
tgttactgtt ggtgagggtg ggagtcctcc cactaagitt ctgctaatac tgccttggtg 840
gcttgcctact attccaiga agcctccact gatactacat tacttttggg tggtagcaaa 900
tgtcctgctt ctccactagc cctccigctc taaaacaacc cgagttagga gtgggaagga 960
agcittgita ctggtagggt ggagctgaag tccagacttg ccacattgtc ccactgatgc 1020
tacagggagg aggaagcggg ccacattact gcctgatagg gatgaaagcc ccagctccct 1080
acctggccit cgcigatacc agcctgctac aggagtgaag agagatttga aggcctcaat 1140
atagcctgtc gagggiggaa gtcttgcctc caatgggctt ttagcagcat gggtaggtgt 1200
ggggccatag ctgtctctgt actgcttggc tagagtggag tatttgaggt ccaaagttt 1260
tctgtcttcc tagccctttg gtagaaaga gcagactttt gttagaagta ttttttgtg 1320
tttacctgtt gtatttcag gtctctagct tctccagcac agtcigggat gtgtgagaca 1380
cagagaaaat ccagtatgtt tactaccgta tggtttcttg ggtcccaacg tctctagcta 1440
atctgtcca cttttggag ttttcttatt tgttttagat cagggaatta gcatattta 1500
ataggagaaa tatggaaaaa tacttctact ctacttccct ggaagttcct gtttattttt 1560
tatgtccttt tctcttggct agaccgtaag agacttacga aacaaacact tacacattct 1620
actaaacica atgtccaaag ttigigaact tcttgaatat tgcctgttca ttccacccc 1680
cagtcactga ctgaatctcc ctgctgtctg tctacaatgc caatgagctt ctggttaact 1740
tcttctcatg catgcttagg caacaacttc ccagttttac tacacttggc catccctagt 1800

tttgttgtt cttaatccct tggcctagtg ccaccatact cctccagcag agcaaccaat 1860
tcctacatta taggacagca catatccact aaaaacagtt calgccacac caaccacatt 1920
tccctttgtc aacaaaatta ctigatagat aatlcaggga atgccitgag aagctgattg 1980
acaacaagat aittggcaga ctctctgctg cctatacata ccttagcatg tggaactcaa 2040
gtaatgagag gtccatttaa ttggattgaa tigggcigga taggattgga ttgaatcctg 2100
tgggatggct aggcataaatt agaaatgaag actagtittaa cagcagtatc caaggatagt 2160
tgactaatga gttaatitta ctcicaaaga cagtctttag tagtaagctg taalgcatia 2220
tatcaacta ttttccagtc aatgatitai aagttaactg aataaggatg cttaaagatgt 2280
gccittattga aatggcaatt agcacaaagt tgggaatgaa atctaattag tttaaataaca 2340
gaatcacata aaaaaggact tgaataaatg tagcatccta ccatgttcct ggatagaaag 2400
actgctatcg taaagatatt catctcctc aggttaaatt ataaactcaa tgcaattcaa 2460
caggatttta aaaaactaga caaagtatg ccaagtttac gtggaaaata aaatgtgagg 2520
gaccaacaa tatttgaaaa agaaagagaa taaaatctca tccctccaga taccacaatg 2580
tattataaag caatagtaai taacatgagg gcagaaatga gcaagcaagt gaacaaaata 2640
agacagatag tcacaggaaa ctcatatatt tatagggtgt ttgcgtataa tgaagatggt 2700
ccitcaaate agttgggaaa agatgggtta ttcaataaat ggtgttgggt aaaattgggt 2760
atacattggt gagaaataaa gtgaaactcc tactttgtat catatgcaa aaatagattc 2820
cagacagatg aaatatttaa atgtaaaaa taaaattcta aaactactag aaaaaaaga 2880
agaatatttt taticctttg aaatagaaaa ggtcttacta agcaaaacac agaagtaata 2940
aatgaataaa tgaagacaaa tatgataaaa ataagttaaa aatataagca atctttcttt 3000
gttttttttt cacctttcct agaaaaaaat atataggcaa ctgtttaagc aaggtagatt 3060
acaagaaaa atttacaaca ttgacaggc cacagattat tatccagcct catctgataa 3120

gaaaacttca acataaagat atctgttttt ttctttataa ggttcttcaa agtgagccaa 3180
tcactttctta agctgaacaa aaaacaaaac agaagtgatc ttctccaata atgaaaacaa 3240
acattgacag agcagctgta ggaiccttctc aggcaaatta tgaaaaggig ccttttctca 3300
gaaaccacag ttaccattca gcttttgigac cagaggtttg actgtaccct agtccctact 3360
agcaacccaa ccacataacc aacttcaaag gtcctgaatg actgtgttgt acttaatggc 3420
agaigatcta tctccattt ttgtcctaag gattttccaa gataatata ttcgtcattt 3480
gttttgcttt tacttcactc caaatigaaa tctatttgig ggataagact aaagaaatgc 3540
ttataggaaa atgatagca ccaaattcct atcttaaaaa atgaaaaagg ttcaaaatca 3600
atgacctcag cttttacttt aagaaaatag aaaaagcagg ataagctaaa gccaaagtaa 3660
acagaagaaa ggaaattata aagataagag cagaaatcaa tgaatagaaa acaaaagaaa 3720
aaaatcaaac caaacagctg attctttaag cagatctata aaattgataa aactctagcc 3780
agattgatca agtaaaaaag agagaagaca caaattacca giattaagaa tgagagaggc 3840
aatatcacta cagatcctac agataaaaa agtataaggg catactttga ataattttat 3900
gactataaat taggcaactt agataaaaca aatttcttga aagacacaaa caaccaaagc 3960
tcacctaaaa tactcacaaa tgaatagtc ttatagctat taaaaaatg aggccaggcg 4020
cagtggtctca agcctttaat cccagcactt tgggagggtc aggaaggcgg atcacgaggt 4080
caggagtttg agaccagcct gactaacatg gigaaccctt gtctctacta aaagtacaaa 4140
aattagccag gcttgggtgt gcgtgcctgt aatcccatct actcaggaga ctgaggcagg 4200
agaatigctt gaacctggga ggcaaagtgt tggtagccg agatcgcgcc actgcacttc 4260
agcctgggca acagaacaag actccgtctc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaattgaaat 4320
tatagttaaa agtcttccca caaagcaaac tctagacca gatggcttca atggtaaatt 4380
ctactggaca atcaaacagg aaacagtaat aattctccac aatgtctttc ataaaatga 4440
tgcggaggag atactctcca actcattcta tgaacttagc attaccctga taccaaaatc 4500

atacagagac agigtaggaa aacaacagat cagtatccit catgaacata aatgaagiac 4560
aatgcagict tatgcataaa tcagagcttc atigtctiac agataaggia atgtaggatt 4620
gttgggtgcc cctccaggtc tgltaaattc acctccttcc ccagagagca tccttcttaa 4680
ggacagggag cctcaatatg tcagtcctca cagcaccicc ctacagcttc agcacitacc 4740
agctcatcac cacaaccgat accacattgg ataattcat gaattacttt agagcaaattg 4800
caagagaaaa aatggatttt tatataggag aagaaggagg aaattcttgt ggatttggta 4860
cagaataggg ccaagggaaa attacagatg taaaaagaaa agtgtgtgaa atagtatcct 4920
tagtgctcac aaatacaatg atttcattgt ttttaaaaaa aaaaaatgac aaatgcttaa 4980
tgcttggigg taatgcttta ttgaatgtgt gttatacact ggttcctcat tcctgaagtt 5040
agaaataala ccttctcttt ttcatitggt tatgtttgct gaaacaaatc aaaggctgag 5100
atigaaacac atgctacttc aggtggatga ccttactact aagctcatca caacagcact 5160
tacagctgaa gacccagag tcttacctaa cttttgtcac aaccagatt ttggccatgt 5220
agtcttgggc cttaccatta aagcagacag aagtcagagg aatgactcct ttccacttga 5280
agtgagctgc aggtctciag gaaaggcaag atgcacattt ccttctgtg gagcataaag 5340
cctttgtaat tcaggactta ggaccatat ggatttgaaa tattatgaca ttggagctgg 5400
agtggttggg gacaacacca gtagtgttat aggccatgga atgtcaaaag aacatggaac 5460
ccgtttaaaa tcattaaaca tcaaaactct cccctccctt ggtgataagg ttggctgtg 5520
tccccatcca aatctcatct tgaactccca tgtgttggg gaggcacca gtgggaggta 5580
attgaatcat gggggcaggt ctttccatg cgttttcac gatactgaat aagctcaca 5640
agatctgatg gttttataaa ggggagcttc cctgcacaag ctctcttctc ttgtctgcca 5700
ccatgtgaga catgcccttc acctccgcc atgatttga ggccctccca accatgtgga 5760
acttttaagt tcattaaacc tcttctttt gtaaattgct cagctcaca tatgtctta 5820

tcagcaacgt gaaaacagac tatctgattt tctgtgggat gtggattaig accatggaca 5880
gagcataact gggacagagc tggaaaaaat attaatlagg tgcctaaaaa tatitgttag 5940
aacatcttct atgaatgaga atcaatccctg tttccatggt gattcaccag gcatcaattc 6000
caagcatcca tgaatcagaa aagtcctatc ttctcttagt tatcatccag gacccaagg 6060
aaccataatt agccaacctg ttacatttc cttttcattc actagccctg aagtctccag 6120
gggacaggga ctctgtccta ttcatctctg taaccttacc acctgacca gaatagctgt 6180
tccctgaaga ttgtgtggat tataaatgtg gatgtcttat ttctttgaaa gtgtgagctt 6240
caggiactga tcacgttatt ccaattatca atttagtacc ttctctcacc attaaactgt 6300
gaaattcttg agggagaac ctatgactga tttatctctg taaactcatg ccaccagtat 6360
tcaaaatcac acctagcaca tagtaaacac tcaatgtttg ttgaatgact gaaggaaagg 6420
atgaaaatga acctcttgc ttctgaccag tggatgagtt gcttggccgt gtctctacag 6480
cctagagctc atcccctaaa gcatcigaag ttacccatta gtgcaatggt tcttgaacgc 6540
tggtgttgat cagaatcatc tggatgcca ggttctctga aataagatag ggtctaggca 6600
tttgtatttt taccaaggag gtgtgatgga gtcagatgca agaaggctag ttgaagaaac 6660
cacatgagag tttagtgtag tglattagaa gactggtttg gctctgtcgc tagtggctac 6720
atcatcttgc tcaagtcatg ccagctcag gacctattc agtctcttca gctgtaatat 6780
gggtgggttg caccacataa ccagaaagat ccttccagc tctaccact tacaacatgg 6840
tcaaatitgg tctgattttt taaatcgtag tacaatatat atgacataaa attcaccatt 6900
ttagccactt taaatgtaca attctgtagc attaaactaca ttacattgt tgtgcaacca 6960
tcactaccgt ctacttccag aactcttcat ctigcaaaac tgaacctctg ttgtcattag 7020
tcactaacia ttctctcccc cccctcttc taggccctgg caatcaccat tctactttct 7080
gtcgtatga attigactac tctaggtaac ttatataagt ggaatcacag catttgcctt 7140
attaigactg gtttagttga cttagcacia cctcctaagg ctcaaccaca ttttagcatg 7200

igicagaatt ttcitigitt ttaaggciga ataataitct gtigtatcig taaataacat 7260
cittaticat tigtccatca acagactgtt gagitccicc catctittga ciatttgaa 7320
aaatgcigct atgaacciga gtiacagac aiciggtiga gtactgcit caattcatig 7380
tttataigga tcatatggta atttiatgtt taatititit ggaactgcta cattgitttc 7440
cacagigtac atcaitttiac atitccatca gcaatgcaca aaggittcaa tttctccaca 7500
ttcttaccaa catitititiat tttctgtttc ttatitaitt gtttatttat tctgagacag 7560
agtcicactc tgcacctag gctggagtgc agcagggiga tctcagcica ctgcaacctc 7620
tgccitccat gtccaagiga ttctctctcc tcagctctcc aaglaaatgg aattacaggt 7680
gcccaccacc acgcccaggt aattittgca tttttitlag tagtgaatgag gtitaccat 7740
gttggicagg ctggcttga actctgacc tcaagtatc caccgcctc agcctccaa 7800
agtgciggga ttacaggtat gaaccactgc acccaggcca ttttttgctt tttagataat 7860
agtcalccia gtgggtatga agtggtaitt cattgtggtt ttgatttata tttccctaatt 7920
gatcagtgat attgagcatc ttcaagtgc ttattggcca tttcttctt tggagaaatg 7980
tctatgcaag tctittgctc atttitaaat ccagtigctt ttgtttatic tttttgattt 8040
gaaagtgtc tttatacctc ttgtatacta atccctatc agaatgatt tataaatatt 8100
ttcttctitt ccatggatig cctitttiac tctgttgata gtgttcttig atacaaaata 8160
atttitaaat tgaatgaagc ccaattaatc tattittgtt tctttgttg cctgtgctt 8220
tggtgtccta tccaagaaac tgttgccaaa tccaatgca taaagctitt tccatgctt 8280
ccttctaaga gttitgtagt tacagctctt gtatttaggt aittgactat tttagttaa 8340
ttttgtaca tcgtataaaa taagaatcca atttitattt tattttactt ttgtatgtg 8400
gatatccaat ttccccacca ccaticatig aaaagactgt ccttttccia tcgaatggc 8460
ttggcacctt tglaaaacat aattigacca tataatgtgag ggtttatitc tgggctctct 8520

attctattct attctattct attctattct attctattct attctattct attctattct 8580
attggtcctt atgtctttct ttattctagt accaccattt tgcicatcat aactttgtag 8640
taagtttga agtcaggaat cgtaagacct ccagctttgt tcattttcaa ggtttgtttg 8700
attattcaag gtcccttgat agtccataatg aatttcagga tggatttttc tatttcigca 8760
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaatcatt gaaattttta aacagattgc attaaaatcg 8820
tagattgttt tgggtagtat tgacatttaa caacattaaa tcttccaatc aatgaactag 8880
gctattttta tttatttttt ctgtttcttt gagctacttt tgtagttttc agtgtataag 8940
tttttgctac ctggtaggtt atacttctaa gtattttcta ctttttgatg ctattgcaca 9000
tigaatcgtt tctttaattt ggtggtagcg gggatttgcg attgttagta cataaaaatg 9060
caactcattt ttgtgtgtt gattttgtat ccgcagctt taacaaatc atgttagttc 9120
taacagactt attctatgaa tcattaggtt ttctacata aaagatcatg tcacctacaa 9180
acagagataa ttitactcca ccccttcccg ttgcaatgcc ttttatgtct ttttcttgcc 9240
taattgttct ggctaagact tccactacca tgttgaatag aagtggtgaa agtagacatc 9300
cttgtcttgt tccaatctta gagccaaagc tttcagctt tcacggcccg aaagactttg 9360
taatatgttc tcaaggttta agaattcag aagttttcta agcaagagac cattttatta 9420
acttagttgg cagcaattct gagagattag aatgaaaaga tagaggataa gaagtaatcg 9480
gcaggataa tatattgagt gtgctgaata tacttttagt ttgttatagg tgttaaaaaa 9540
tggcaaagga ggccgggcgt ggtggctcac gccigtatc ccagcacit tggaggccga 9600
ggcgggcaga tcatgaggtc aggagatcga gaccatccig gctaaaacag tgaaacccta 9660
tctctactaa aaatacaaaa aactcgctgg gcatggttgt ggacaccigt agtcccagct 9720
actcgggagg ctgaggcagg agaattgtgt gaacctggaa ggtggagctt gcagttagcc 9780
gagatcacgc cactgcactc cagcctgggc gacagagaga gactccgtct caaaagaaaa 9840
aaaaaatggc aaaggaaaga atgaaaaata aagcaaggic ccagaagagg ccaaaaatct 9900

taatcaaaat tgactgaaca ttacggaatg aaatgggttt tccittactc caaitaacga 9960
cttcacaaga agatccatc ctctttata agattaaccc aaaaccagca cttaaaacca 10020
gaagccttga aaggatggag ttggggacc ctctcatgt ctatcccag aagggggct 10080
tcttctgggg tctgtcccc taaagagcta ggcaaaaagt atgcttgcca catctgttga 10140
aagatagaaa gtgggtctaa aaatcatga gagggaaactg aaacattica gagaaggcaa 10200
gactcagaag taagaaacca aaagaggaag gtaaaatct agttacaaag aaaagaggaa 10260
tggaattaa attgtcttac agagaaaatc cagaactgcc cctcttccc ttactactcc 10320
atcaaaaaag gggaaaaata gtcaatggga aagtttgag aaaaatagat ctctgcattc 10380
ttctggttga gaatcagac aactgaact agagagctgg gtaatttctt gactaaaggt 10440
gtgttagatc tgaagggtt ttcttaaaa ttgtcttgt tcatccctc catcttagag 10500
aggaacacag gataagagac ctctggagct ccccagggt caccgagcta ataggatcag 10560
agacaaagct acaaagcat ttctgacat ctctccagggt ctctttttt ctggaccccc 10620
cataicaaca tgaigtattt attacatgg attagcaact ctcttgagc ttctctcagt 10680
accaggttia catctcagtc tgtgggtctc agagaaagta cccaatcagc agcaacatta 10740
cctggaaact catcagaagt gccccctc agccccacc cagaictatg caatcagaaa 10800
ctctggaaat gcaggccagt cctaacaagc ccaccaggga atcttggtgc actaaggttt 10860
gagatccact gatcaaagaa ataatatcc tttcttcat tataatagca tgaataataa 10920
ctaacatgta ttccacaatt taaaaagag cttaatgctc ttgttaaatt tgagggtagt 10980
cttctcaaaa tctctgtgag gctagaaagt cagatatga aacacctgtt ttatgggttc 11040
aaagataggi tcaaaagaga gtaaatgatt gtgggggtgg caggiccaga gagggcagga 11100
tcaaaactgc aattgagict tctgccitat aaaccagcat agcttcccca aggcacgtca 11160
cttctcgata aaatggtagc aactagagt tctttcaga tcatcttag aagcatggag 11220

tgctagggtca atgtgtglaai tgaataggaa ataataaac taagaactcc catctctiac 11280
gtccitatat acaatccgti caggtagaag ctgagctca gagagaacaa gtgcccctcc 11340
caggaccacc aggtgaagctc ggcatagctg tgcctagaat gtaggcctgc tggcttcagg 11400
gcttgccctgc ccaggaggc ttgtgggtt ctacttggtc atccagatca cagaggggca 11460
gcactgactc ctaccagtg ctctgactg tacatctaat accttctact aagaaaaccc 11520
ctctctctta gaccaatggt ttcaaatct tgggtgtgat tggaaacacc tggaaagctt 11580
gttaaaacac agatgtccc acccaagag ttctgattc tgtaggctgg ggtggggacc 11640
catgaaagtg catctctaat aaggctccaa gtgatgcga tgccaccagt gtgtggacaa 11700
ccctttgagt ggtgaagctc tggacacct aatttgcaag gctaactagg catatgtggc 11760
aaatgaatac gaactgaaat tctgactcca atatcttcac tgatactct aatccatagc 11820
atacacacag tccattcgt ttcccttta gcttttaac tacattatc ctctctctt 11880
ctgccactgc ctctctcca gttagctcaa accaggtaac acataaccgc ctccaaactc 11940
atccgccag ttgtttctt tggctttaat ctgacttct tatctccacc agatttgctt 12000
taccaaagca ccaatttctt aaggcagggt tagaattaaa aatcttctgt tctctctcat 12060
tgcctaaaac tccaaactt atgattcaag gtcttccaig accttcaagg accagctcaa 12120
cgttttagcc tgtcctaagt gacatgcctc caccacatac ttcatgctt ccacttctt 12180
tctccatgic ttgttcatg catctccatt tctctacct gcgatgtcct ccttcgcat 12240
ctctglagat ttaaaaatcc tacagggtc atctcaaatg ccctttcctt catgaagcct 12300
ttcatgaaat ccccatcgag aggttttccc tctctcagc tctccaaagc acagaigtct 12360
gcgtttgtgg ctattatctt acgttgtttt gatttaaaat ttctccagct ttacacattt 12420
gtcatcctct taaggacaaa catcttatta tggatcaatgt gaagctatag aggataattt 12480
aatgaaatat tccaagggt agtcattaca catgactgat ttatctctgt aaactcatcc 12540
acactcatcc acctgatttt gattggccaa gtaatgaat cagagaggaa aagatggtaa 12600

aaataaata aaaatctcct aggtagctc acatcccaca gagccccagg taatgaaatg 12660
aggccctgag ataatacttt atgaacaata aaaciccggg tictatigac agtgaagcaa 12720
gacctgagag agaaggctaa atcccttgi gictagctgc cacaatcttc tgagaataat 12780
ggcctttctt cccgtctgcc tctgaaatca taggcaaatt ttctctttg gtagcccta 12840
atacagaaag gggaagctaa ataaaataa tacaaggaga aggtatctgg gagacagagt 12900
ttcttgattc ccttctgcat gctctcttc aaaagccttt atgagcttac ctacattta 12960
aatcttttta aacaaggcat tatgtggctt ggcttttcc agctccacac accttcacac 13020
tacattcccc ccagctaat ctgctctggg aacactgacc ttcttttagt tcttgaaca 13080
catlgatttc tggtaagat gactcagtaa ctcaacctt tgtgtgccc ttggtgctgt 13140
gaagatatag atatatatta accactgcac accagaaatc agaaatagca caacagagaa 13200
taaagtcatt gagccaatct ctgagctcca aaagacaaat ttctccaaa aagacaaatt 13260
caggctctaa aacaatactt taaggaacca gaagtggat agaaaattaa ggtggttagc 13320
agggtctaac cacatgccct ttgagcccag gtttgaaga agacaatggc aggtaggaat 13380
gtggtttctg atgggtaata ggtactgttt tcatttactt tctgttgctt ataacagaat 13440
atctgaaact gggtagctta taaagaaaag gaatttatgt ctgcagta gggaaactga 13500
gaagtcaaaa gttaggggt gcaatgaca agtgccttct tctggtggg gatactctga 13560
agagtcttga ggtggtatcg ggcataccac tctcagtag gggactgagc atactaggc 13620
aggctttctt tcttctttt ataaagctat cagtcctact ctatgataa cccattaatc 13680
cattaactga ttagccaatt aatcaatgaa tggattaat catcatgag ggcagagcct 13740
tctgacca aacacctctt aaagactcca cctctcaata ctgccacatg ggggattaaa 13800
tttcagcatg agtttttgat gagacaaata ttccaatgat agcagttatt aaaagtacat 13860
gcttagaga aggggatgg agtcagctc agtgcttaaa ctcaaaagct aggatgaggc 13920

tciaacacitc cigaagaag gattigctgc tggctccita ccagggtat aicitiitaca 13980
gagcaggaga cctaaagagg caggaggacc cggacatcgt tiggaaacca agcactaaaa 14040
caggccaict glitaiacccc caataicctc tcaggacaag tgittitgaac cactcacaca 14100
aggactagtc tgggcaagtg ggctagatga agaaaccaca aaatagctaa gtggggagag 14160
aaagacaaaa aatactatit itatcaaaaat gaaaatacaa tccaaaatic catgaticat 14220
gaagaaatca aatggitatgt gliaggitgt tcttgcatig ctatagagaa atacctgaga 14280
ttgggtiaatt tataaagaaa agaagitiia tggctcata attctgcagg cticacagga 14340
agcatggctgc tggcatctgc tcagcttctg gagaggcccc aagaagattt gctcaaggca 14400
gaaggitaag ggagagctgg cacatcacat ggtgagaaaag gaagctagag agagagtga 14460
gggtgaggig ccacaagita ccacagccag atctcttgag aactcactia cttcatgag 14520
gacagcacca agccataagg tglaggagc caaagtccta tgggacatga ccaactcagc 14580
attccacitg aggtatatait atcaaacagc aaactgttta tcacgaatgc aggatgtgag 14640
caaactcaca actggctctg ccaacagaag gtttgttga ggcaatcact cctggigcc 14700
tgaggtaatc tactgcaaca tctagagaat gcagcttgc aagcctactc tggacagggc 14760
agctggcacc ttatccatc ccccttctca ctatctttt tgcctaata aatacagagg 14820
gctgtglaaa gctcagggcc ctgtccact agaggcaagt tgcacctga ccccttctc 14880
caaataact cttitgtctc ttgtctttta ttctcacatt tgcacctt gticagttcc 14940
actaggitccg tgcgggttat atactggctgc cctgagcagc aacagaatca ggctctcaac 15000
aagtgtcatc cgaacatggg actitgagga catgaacgaa gaaggctgc tggagcagag 15060
gaacagaaat tgacaaggig aacagggacc ctgggacgag tctgccagca gcggaataa 15120
gttcagttac cttaaagggt actgatcagt gccctaaaga gatactggga gcagtgttt 15180
aaagaagtac tgggaatggg aaattttctg aatcagggtt acaaggggaa gaattgtct 15240
attaaagaaa aacattatgt gcagtgtctt aaagtgtat tggaacagtc tggagcttag 15300

gttaatttgc agacactaac talcacatgc giccgttga agagagtcca ccaacaggct 15360
ttgtgtgggc aataaagctt ttaatacacc ttgggtcagg tgggctgagi ccaaaaaagg 15420
agtacagcaa gggagataga ggiggggcag ttttatagga ttgggtlagg tagtggaaag 15480
ttacagttaa aagtggttat ctttgtggg cagaggcagg ggtcacaagg tgctgggtgg 15540
ggaaatcatg agactctttt tctgggacag gagtgcaca aggtcaatig atcagtggg 15600
gtggggcagg aacaaatcgc aatgggtgaa tgcatacaci taaggcagga actgactati 15660
tcacttcttt tgtggttctt cagtgtttc gggccatctg gatgtatagi gcagctcaca 15720
ggggatatga tggcttaggt tgggctcaga gacctgacat tctatcttt ttaataaat 15780
aagaaaaaca aaacaaaata gigttaagt gtggggcag caaaaatttt ttgggtgggt 15840
atgtagagat aaggggcaat gtcttcagg gctgcttcaa gcacgatcac ggtggtgtgg 15900
gaatctagag tgggagagat taagctgaag aaaaattttg gggaaagggg tgatattctg 15960
gggttgttag aaggagcatt tgcataatag aatgatgatg gcctggatgt ggttttgtat 16020
gaattigaga actaaacgga agacacaagg tccaaataag agaaggagaa aaacaggcat 16080
taaaggatta agaattggga ggacacagga catccaatta gagagtgcc aaggggtcc 16140
agtgttaata ttgcttga caatgagtt tggggctcta ttaggtgtc atataccagg 16200
ccagattgat ttaggtaaaa acaacacict tcatitaaaa tatacagagt cctccttttt 16260
tagcagttag taagtigaga cctattccig tcttctata ttaataagta aaataaagca 16320
aaatagaggt gaagtgttg tgcattgagg ggaacaggaa gcagttcgg cctatttgca 16380
aatlgatttt gggggggtaa agaaaactag tgtaccttg cctgtccaat taataagtag 16440
acacatgtag atggaggagc cacagaggaa gaagagaact ttgtaaggca aaactggaaa 16500
tgtaaaggga aaagatgaga gggagcacca aaagagggt cttgcacca gacacagga 16560
tctagtgaga gcagcagctg ttagaggttg taatggggat taatggggct actgggtaga 16620

gggggagggt caacttttat ggtgtatgag aaagcgata gtgtctacaa gcaaccittc 16680
atigctattc ataggattgg glataagtaa acaagaaggg ggggctagga ggagagictg 16740
aagaacaagg ggaaggtagc caaggatgga gigaatgta gggcaaatgt cttaaaggaa 16800
atgagagggt ctaagaggag ggctagtggc ttgtaaccca catggaagag gttacgaaag 16860
galgalagaa tggaaatgagc ctgtgaggct ggaaggagga attttccttg gtccaagaac 16920
catttgcctt gtgtgggaag agtttgatag gtggaagttt cagtgggagg gtaggcggga 16980
gtgactgatg agaaggagaa aaactggcca taagggacag aagttagaat gctagctgtc 17040
ccittagcta cctatcagc ataagctttg ccttgagtga tgggatctga tgccttttga 17100
tggccttgc agtgaatgac cctagcttcc ttggaagtag agcagcttta agaagagttt 17160
ttatgaagaa ggcatlaata atggaggacc ctgtatagt gaggaacct ctttcaggcc 17220
ataaacaga atggaggtag agaataigga aggcataatt agagtcaglia taaataciga 17280
cacacaatcc ttttgaaga gtgagggtc gagttaaggc aatgagttcg gcttgctgag 17340
agggagtga gtggggcaga gtgttagcct caatgataga tgtgaaagat actatagcgt 17400
agcctgcctt tgctggtag tggtagtag gcctagtga acigccaica ataaaccaag 17460
tgtatcaga gtgaggaaca ggaaagaagg aaatatgga aaatggagtg aatgctaggt 17520
ggatcagaga galacagica tggggatcag gtgtggtatc aggaataatg tgggaggcca 17580
gattgaagtc caggccagga acaatggtaa ttgtgggaga ctcaacaaag agtgagtca 17640
actgaaggag ccgggggagg gggagagcgg cagaaagta atgcatcagg tgtgaggaag 17700
aaaatacatt ttgaaagita tgagaactgt agagagttag ttgatcatag tttgtgattt 17760
tgagggcctt taaaagtatt aaagcagtgg cagctgccac acacagacat gagagccagc 17820
ctaaaacagt aaggicaatc tgttagaca gaaaggctgc agggcactgt ccaagctctt 17880
gtgtaaggat tctgaccgca cagccttgta ctttggctgt gtgtaatgaa aagggttggg 17940
atgagtiagg gagagctagt gtgggagtag ctcttagggc tgtttttaag gaacataaag 18000

aggagtgggg aaaggattia ggatctatgg ggtcagciag gtitccitit gigagttiat 18060
giaatggitt agtcaggatg gcaaaaccag giatccaaag gigaaggtac ccaaccaigt 18120
ciaggaagga aaggatttgi tgcittigtg aagggaattg ggittgggag attagccgga 18180
cacagatcag gaggagagc acttgtatit ttaigaaga ttaigccgat agglacgga 18240
tgaggaagaa atttgggcti tggaggggga tacacgatat tcccttgaga atagatgtig 18300
gaggagcagg aggggtgctt gttaggaaga ttcattaggag gggctataaa gtagaaggcc 18360
atcaaaatat tgaataaggi gacaagcaga tggacagaaa agtaaattat gagaaagggc 18420
ttgactgaag taatggaggc tgtccctgaa gccttgtggc agtacagccc aggtlaagttg 18480
cigagactga tgggtgtcag ggtcagttca agtgtlaagtg aagagaggct ggggtgaaga 18540
gtgcaaagga atagtaaaga aagcatcttc aagatccaga acagaataat gggttgttga 18600
gggaggtatt gaggatagga gagtatatgg gttaggcacc acagagttag taggcaagac 18660
aatitggttg ataagctgaa gatccgtggc aggccttagt cccctcaaag cctgttgttg 18720
gatgggatac tggcattgag caggataagg gtaattagg tttaatggga tggtagggtt 18780
gcgtgatcgg tcaccaagga gggagtagag giatccata cttgtgggtt aagatagga 18840
gtcaggaggg gaggttgtga aggaggcttt gaactgggga aaagggtggc aatgaggtgt 18900
ggctgtagcc caggaatagt cagggaagca gataattag ttaaaatgtc tcaattaat 18960
aaggagctg ggcaggtagg aataactaaa aaggagtga taaaagaatg ttgtccaagt 19020
tggcaccaga gttagggagi ttaagaggi ttagcagcct gaccatcaat aaccacaaca 19080
gttatggagg caagggaac aggcccttga aaggaaagta atatggagtg ggtagccctc 19140
atatigatta agaaaggac agacttacc tccactglaa gatttacca aagtgttgt 19200
gatgatccag gaggcttctg aggtgatcag gcaggtcag tcttcagctg ctaagctgag 19260
aagatctggg aaggagtacg tcagagagcc ctggccaga gtccagggg ctctgggagt 19320

ggctgacggg caagtggac aglccgattt ccaatgcggt cccacacaga tgggatacag 19380
tttaggagga atccitgggt gtaggcattc ctggcccag tggccagatt tctagcactt 19440
gaagcaagat cciggaggaa tggcigacca cagtggitta ggtgitttga agticttgtg 19500
tgciggagat gggctgagg ttttctcac agcagaggca agtaattgca acicagaaat 19560
acattgccac tggctgtct ctctctatt atgtacacc tgaaggta ggtaattaa 19620
gtcctgtgtt ggggtttgag ggccataatc taattttga agctttttta atgttgggag 19680
tggattgggt aataaaatgc atattgagag taagacagcc tcttggcccc tctgaacctt 19740
gggcagtaaa atgictaaga gtgttgcca aagggacctt ggactgggtt gcgttttcat 19800
atttgaigaa aaaaaagag cctaaatgct aactaatttg ggagaggta gataaagtaa 19860
aaggaacatt atcttgact atgcttcag ctcttgccac ctctctaaga ggaaattgtt 19920
gggcaagtg aggagtgtc gtcttggaat gaaaccataa gctggactgg gtgtgaggag 19980
gggagggat agaaggatta cagcgtaggg gtagtagggc tgaggaagaa tgggacctg 20040
gtctagccct gtgaggagt gccgtgtgag gaggagctt gggaggagga gagaggtag 20100
atgggttctt agaaaagaag gattcaaagg actcgagct tggtagagg acigaaggaa 20160
cagacaggag agaaagaaga aagatttggg acaagtcga tgggagcag agactaggaa 20220
gggagtgtg tglaaagaat gcctgacat caggcacctc agaccatttg cccattttat 20280
gacaaaaatt atctaagct ttaggggtg agaaatcaaa agtgccattt tctggccatt 20340
tggaacaatt atcgagttt tatitggggc aaatgggtt gcagaagaaa ataagatgct 20400
taggttttag gtcaggtag agtgaagag gtttaggtt ttttgaaca caggctaagg 20460
cagaagaagg aggaatggag ggtggaaggc tggccataat aaaaaggtaa gtttagagaa 20520
aagagaggat agagacacag agagaggggg tgggtgtact catcagccag gggagggtgt 20580
acttgccacc aaggtagtg atcaaggcag tcatccccc ggtgatcaga cactctgaa 20640
atgtgggtga ataatcaggc aggtgtccct gcagtgatt gacaccaagg ggagactgtc 20700

ttcccgagtc cglgaccggi gctggagttt igagttcaca gataaaacac atcicctctg 20760
tctctaccag aaagggaaag gaactgaaat taaggaaggg agagattgaa gggtagagag 20820
atagcaagag agtgggaaaa gagaataaaa agaggccaci tactcaattt aaaattgggtg 20880
agaigticct igggcigatc tgaggacca aggttgiagg tggatctctt cacggaatga 20940
gggtgaggac aggggacitgg tctccagaag gatttccga gtcctggatc ttcagcacca 21000
aatgicatgt gcatccatgt gaagagagtc caccaacagg ctitigttta tcaataaagc 21060
ttttaatca ccttgggtgca ggtgggctga gctgaaaaa ggagtcagca aagagagata 21120
gggtgggtc agtttataa gatttgggtt ggtagtggaa agttacagtt agagggtgtt 21180
atctcttgag ggcagagggtg ggggtcacaa ggtgctgggt ggggaaatcc tgagacttat 21240
catccaggga aggagigtca caaggctgat tgatcagttg gggtagggca ggaacaaatc 21300
gcatgggtga atgcatcag ttaaggcagg aactcactat ttcacttctt ttgtggttct 21360
tcagtictt caggccatct ggaatgtacac gigaaggtaa cggggatata tgatggctta 21420
gcttgggctc agaggcctga cactaacctc ctgcagaagc cacaaaaggt tattacacat 21480
aaacatggt ttccacaggc aggcactctt gatgtggaaa attgggatag agcaggattt 21540
aaacaagctc atcaaaaagg tcttaaagtt gattcttcag ttttctccac ttggagtta 21600
gttcatactg tacttctgcc attatctctt tattattctg cggaacagca ggctgaatct 21660
aaaaattgga aagaatttgt tgccttactc acagctccaa ttgaatataa aaaacaggag 21720
agggaggata aaaattggcc tataccgctt cctccagatg cagaaacatc tgtaccatct 21780
ccttcagitg cagaaataga gatccagta caaagaattt tatgctctgc tgtcatagct 21840
ggagagccct taggaccttg tgcttttctt atttctglaa ggccgatcc aaataalcca 21900
cagcagtta ttaatgaaca cctccacta gaatttaagi tgttgaagga attaaaaact 21960
agtgtgtca ataattgggt acaaagccaa tggttccitg aggaaggaaat gctagacata 22020

22/67

gaacttiggg agcaagtggg gagaaatctt aaacaacacc aggcacaaag gcatcaggtc 22080
ccagtaaaat cttttaaagt aggggcttgg agtagagcag ccctgggtgt tacacacaaa 22140
agagcctaaa aagggaagg aggaggaaat gtcaccgtcc ttatcaccct cccttcccct 22200
agtccaata tcactgggcc aaaataacaa agaggaaatg gaggctttac ctaagcttcc 22260
tcctccaata gataggaaga aggacagagg atacgttaca gctatcagtc cctgtcttaa 22320
gcaggcagca ttagaaggag agctctttag cgggtgcagt ggctcatgcc tataatccca 22380
gcacttiggg aggccgaggc aggcagatca igaggicagg agatccagac catcctagct 22440
aacatggiga aaccccgctt ccactaaaaa tacaataaat tagccaggca tgttgggtggg 22500
cacctgtagc ccagcttact tgggaggctg aggcaggaga atggcatgaa ccagaggagt 22560
ggagcttggg gctttcagtg accctagatt gcaccactgc actacagcct gggcaacaga 22620
gcaagactcc atctaaaaaa agaagaagaa ggagagctct taacctgtct agtaatgcaa 22680
aatcggcaag gcaatcagggt gtaagtattt aaaaagataa gaaaaaggca ttagaagcca 22740
aaaccacgtg gccaaagcagg cagtgggcag gagaaaatgc tcagaggcag aaaagctcac 22800
agcgacaaag ccaacaaggt ctgccagga cggcagcatc cctctggcaa aggagcaagg 22860
gagcagcaca gacacaggca aagcctaaac aagtaaatg tggccaccct ccaggacctg 22920
caccactgcc ctctggctct ggggcagcc catgcaaaa ttcatgtgt tacatctcag 22980
gctatgattc tctgctaaga tgaagttaa atgaagaat ttgaaaagca tcttttctaa 23040
taatggccac tatgtcatc tctctctat ccctgatgta gctttccaaa ttcaatttaa 23100
gtaaaacagt aaccttgaa gggaaagaga ttacagaggg cccatgaatt agtgaagag 23160
taattaaaag ctaggcattt aaaaccacac attacgtttt aaagaagaaa tttaaaccia 23220
attaaatgat attgtttaa ttagaaggta aaaatgtgt gccctgttgg gaacaggccc 23280
ccaaatctgg ccataaacgt gcccataaa caaaatctct gcagcaccat 23340
gacatgtttg tgatggccat gatgccacc ttgaaggttg ttggtttact ggaatgaggg 23400

caaggaacac ciggcccacc cagggcagaa aaticcttaa aggcaitccc aaaccaciaa 23460
tgalagcaig agcaatcigt gccitaagga catgttccig ctcagacag ctaccagag 23520
ccatccctt tgtttggcc catcccttg ttcccaataa ggaatgctt cagtaatct 23580
atgactata gaaacgaig ttaacacig cttgtctga ataaatatg gagtaaaact 23640
ctgttcaggg ctacagctc agaaagccat aagccccig atttccact tccacccct 23700
tatttcigt tgtgtgctt gaattcctc agcgcctct ggtaatggc tccacaacca 23760
cgctggctt ggcaigccc ttctcagaaa gtgaaaaa gttgtatga agtgtatga 23820
aaacataagc atgaatcact gtcttaacc acgattaga tagtcttga ttgtacttg 23880
ctaaaagat cctaaatga gtctcagc tagtgagta ctgtttcaa gactgttgc 23940
cagatgaag tcaataaact tggcagccc gaaactcaa ttacaagatc taagctatc 24000
tgctgtggc ttaagcaca tggtaaaat atattatta agtctctct tctagatatg 24060
cttcagatt ttcttttaa actcttgtt acttattca gcttccata ttgataatta 24120
atgcagtaa ttgtcagtt atgacttga tatcatcagg attccttaa gtaaaaggca 24180
attcaaagcg gtattgact ccccatacc taatgctta acactgtta ctgatgggc 24240
tggtaaacat ggaaaagct cagctatga gagaccacat aattcaatc ctgatctga 24300
gttcactagc actcagagag ctaaggttc tctgtttatt tattaaaga ttttacaac 24360
cttaagctc ctctggact tccagctta tgggcaaat gtagcatca atttatggg 24420
tcaagacta ctacagcat gggatatgag gcttacaat gagacttga taaccagga 24480
ttttaaagi tgaagaacac gggatatcag agtgaaaag gtttagggaa aattctgaca 24540
agggaaaatt ctacatgat atcaataact ggaaagacag gttaaaccct gcaagggat 24600
acattgacat ttttcttcc tcaattgct tttctgtc tctgaatat ggcatgagg 24660
caagagtcatt tttagaccac caagtacct tgaggataga agccttatac tagagggtg 24720

gggaaagaaa aaacagaagg actcataaag aaaaaataa taaaccicag tattaagaig 24780
gaaaaaticc cccaatiggt ctataggtig aacticaici ctattaaati tcagctaigt 24840
ttitgcagaa ttigataigc tgaicataaa attataiga aaatgcaaga gacacagaat 24900
agicaaaaci ttgaaaagaa gaaagtigga ggacttacac ttgttgatit taaggcittt 24960
tacaagcta taataatcaa gacaatgigt tactgacata atgalagaca tattgatcaa 25020
tatagacaat ggaigaatgg agtagaatig acagtctaga aataaaacct tataataatg 25080
gicaatttat ttctttatgt attctgtcat ccagaataca taaagaacac cticaactca 25140
ataacaacaa taccaacaag ggtgccaaaga ccaatcaatg gaggaataa tagictittc 25200
aagaaatttt gcigagacaa ctaagtattt ataigcaaaa taatgagttt gaatggctac 25260
catatacaaa aattiaactca aatggactat attaggicag tgcaacagta attgcagitt 25320
accaccattt ctgtttttt ttttttggtt ttttttttg agacagagtc ttgctctgtc 25380
accagacca gagtgcagt gcatgatctc agctcacigc aagctccact tcctgagttc 25440
acgccattct ccttcctcag cctcctgagt agctgggact acaggcaici gggtaatttt 25500
ttgtatttt tagtggagat ggagtttcac catgttagcc aggatggict caatctcttg 25560
acctcgtgat ctgccacct cagcctccca aagtctggg attacaggca tgagccacca 25620
cgctggcct accattactt ttaatggcaa aaatgcagtt acttttgac caccctaata 25680
gaactaaatg taagagctaa aactacaaaa ctgttagaag aaagcatagg agcaaatctt 25740
aatgacatga gagtiggcaa ttgtttttt gataigacac caaaagcatc aaggacaaaa 25800
gaaaaaatg gataaatigg acttcctcca aattaagaga acttttgicc tgcaagcaat 25860
actattaaga aagtgaag acaagtcaca aaatgggaga acattttgc acataatata 25920
ttaataata ggctgacatc cagaatacat aaatactac aactcaatc caaaaagaca 25980
gccaattta aaaatgggcc aaggatatga ataaacatt ctctaaagaa gatacaaaaa 26040
tggtcaatat gcacatgaaa agatgtcaa tatcaataic tattaggaaa atacaaatta 26100

aaacacaaaa tataaaacac aagataicaa tttacactca ccaggaiggc tgitatcaaa 26160
aagacagata acaagiatig gcaaggattt ggggaaatig taaccitcat acatigctgg 26220
taggaatata aaatttgcag caggittgga aaacagitta gcagittctc aaaaagcctg 26280
ggcatggigg ctcatgccia caatcccagi gctttaggga gctgaggiga gaggattgct 26340
tgagcccagg agttggagac cagcctgagi aacacagiga gacctctttt ctacaaaaa 26400
gaagagagtt aaacataggg taccataata gccagcaatc catctcctag atagtaccc 26460
aagaaagtig aaaacataa ctgacacaaa aacttacata tgaatcttca tattagcctt 26520
ataataatag ccaaaaagta gaaacaaccc aaatacccat caactaatta aaataiggtg 26580
tatctatata tattatttgg ccataaaagg aagtaactgat acaigtcata acacaaatga 26640
accttggaag cactatgatc tctgtattag tcagctcttg tattgctata aagaactacc 26700
tgagaciggg taactataa agaaaaaggc ttaattigagi cacagttcca caggctgcac 26760
agggatcaig gcccaggaga cctcaggaaa cacagttatg atggaaggaa gagagtgaag 26820
gaggaggigc tacatacttt taaaccacca gatcttgtga gaagtcactc actatcatga 26880
gaacagcaag ggagaagtcc accccaatga iccagtcagc cccagccagg cccaactcc 26940
aatattgggg attacaattc cacatgagat ttgggtgggg acactaatcc aaacaatac 27000
attctgcccc agcccccccc aaatccttgg tcttctctac attggaagai acaatcatcc 27060
cttctcaaca gtttcatttc agtattaact caaaaatcca aagttctatc tgagacaaga 27120
caagtccttt ccaciatga gcctataaga tcaaaaagaa gttagttact tccaagatac 27180
aatggaggta caggcatigg gcaaatatai ccattccaaa agggaaaaat tagccaaaac 27240
aaaggggcca caggccccac gcaagtccaa aatcaagcag ggaaatcatt aaatcttaaa 27300
gcttcaaaat gataiccttt gactccaigt cicacatcca ggccacacca atgcaaggag 27360
tgtctccca aggccttggg cagctctacc ctgttgctct acagggtata gcccctaigg 27420

ctgctttcac aggcctggcat tgagtgccctc cagcttttcc agglacacag tgcaagcigt 27480
tagtggatct accattctag ggtctggaag atttggccc tcttcicata gctccagtag 27540
acagtgcctc agtggggaat ctgtatgggg gctgcaacc cactttctc cctgcacig 27600
cccaatagag gtctccaig agggctccat tctgtagca tacttctacc tggacatcca 27660
gggttttca tacaacctct aaaatctagg tagggctcc caagcctta ccttgcctt 27720
ctgcacatcc gcaggctta taccacatgg aaaccacaa tgcctatggc ttgcacccta 27780
tgaagcagta gtctagaca tatctgggcc ctttggcca tggctgggat gcagggaaca 27840
gtgtctgaa gtggcacagg gcagcggggc catgggctg gcccaigaaa cttctttcc 27900
tcttaggctt ccagacctgt gatgggagg tctgctcga cggctctag aatgtgttg 27960
aggcatatt ctcattgct tggctattaa tatttggct cctttactt atgcaaatt 28020
ctacagctg attaatctt ttccaaaaa atggggttt ctttctact acatggicag 28080
gtcacaatt ttccaaact ttacgcttc cttgaaatg taagtccag ttgcaggta 28140
tttcttgat cacaatatata agcatatat tgtagaatca gccaggccac atcttgaatg 28200
tttgcctgt tagaaactgc ttccaccaga taccctaat cattgctatc aggttcaaaa 28260
ttctacatat ccttagggca agggcacaat gccccaaga ctttgcata tgcataagaa 28320
aatgacctt tgcctcagtt cccaataagt tccccatct catctagggt ctccttagcc 28380
tggacttcat tgcctatct agtatcagca tttcatcac aataatttaa ctagtctta 28440
agaagtcca aactttcct tatcttcta tcttctctg agccctcca actgctcca 28500
cctctgcca ttaccgggt tccaaagctg ctccacatt ttgggtatct ttatagcaat 28560
gctccattc tgataccaat ttctgtatt agtcttctt cgcactcctg taaagaacta 28620
cctgagactg ggtaatttat aaagaaaaga ggtttaatg actcacagtt ccacaagctg 28680
tataggaagc atggctcaga aggccacagg aaacttaca tcatggagga aggcgaagag 28740
aaagaaggca cgtcttacgt ggctggagta ggaggaagag agtgaagggg gaggtgttac 28800

acactitaa acaaccagat ctigigagaa ctactacat aicatgagaa cagcaaggga 28860
gaggctgcc tccatgatcc aatcaccicc taccaggctc ctctccaac attggggatt 28920
atgattigac atgagatttg ggtagggaca caactccaaa ccatatcaat cccatttata 28980
tgaaaigicc acaatagata aatctataga gacataaaa agattggigc ttgcctagig 29040
ctggacgiga caggagggtg tgagtaaaag aggcaatgga gtgataggta cagggttict 29100
ttttgggtg atgaaaatat tataaaatta gattgtggtt atagtgtat aactctigaa 29160
tatcctaaaa atatatigaa ttctcattt ccatitaaa tgggtgaatc ttatggiatg 29220
tgaattatat ctcaataaaa ctgcaaaaaa tgcacaattt gcaattgcaa aaatatggaa 29280
ccagtcctaaa tgcctatcaa tgatggata aaggacgtt ggtatatata tatatatata 29340
tatatatata tatatatata tatatatata tatatatata cacacacaca cccatggaa 29400
tactactcag ccaataaagg gaataaaca atggcatct cagcaacctg gatggaattg 29460
gagaccattt ttctaagtga aataactcag taatggaaaa ccgaatatca tacatttca 29520
ctcataagtg ggagctaagc tatgaggatg caaaggcata agaattatat aatggacttt 29580
gggaactcag ggaaagggtg agagaggggt gaggaataaa aggctacca ttgggtacag 29640
tgtacactgt tcaagtatg gctgcaccaa aatctcagaa atcaccacta aagaacttat 29700
ttacataacc aaataccacc igtcttcaa aaacctatg aaattaatta atttttaaa 29760
actgcigaaa tcaatagtga aaggatggac tatcaataa tgacacagtt aattgaatat 29820
catattitaa aaattagatc ctactctac actataacat acaataaat tccaggigaa 29880
ttatagacca aatatgaaaa gcaaaatttt aatatittag aagacaattt ttatgacctt 29940
aagttagaaa atgattttta aaaacaggat gcaaaaacac taatcataaa gagatatit 30000
aggccaagca tgggtgctca caccigtat cctagtactt tgggaagctg aggcaggigg 30060
atcactigag gtcaggagt caagacaagc ctggccaata ggggtgaaaca tgtctctact 30120

28/67

aaaaalacaa aaattagctg gaaatcgctc gaaccagga ggcagagggt gcagtgagct 30180
gagattgtgc cacigcactc cagcctgggt gacagagaga gactccacct caaaaaata 30240
aataaataaa aataaagaga gattttaata aggtgcatta aaataaaaaa ctatccatca 30300
aagacaccat gaataaagtt aaaataggcc acaatgagaa tataattgcc atgaattttt 30360
tctttttttt tgagatggag tcttgctctg tcaccagga tggagtcag tggtgcaatc 30420
tcggcttact gcaaacttca cctcccaggt tcaagcaat cctctgctc agcctccga 30480
gtagctggga ttacagggt gtgccacat gccctggctaa ttttgtatt tttgtagac 30540
acggggttc accaattgg tcaggctgag ccaaaccc igacctcgt atccacctc 30600
ctcagctcc caaagtcgt ggattacagg catgagccac cgtgcctggc ctacctgaa 30660
tatttttta aaggtagcat ccagaattaa taatctctc caacaaatt cattagtagt 30720
caggaacgt caaataaaa tcaaagtaa atactactt ccactatta gactaaaatc 30780
cattcaagtc tgataatacc tagtactgag ttggagtaat agaaactgt aatgggacag 30840
ttagtgggt atcactttgg agagaaatta gtcagtatct agtaaaagtt agtgatacac 30900
cttccatttt catctgtct gtgctgtac caaagaatac ctgagactag gtaatttata 30960
aataatagaa atgtattct aatggttcta gaggtgaga agtccaagt tgaaggcca 31020
gcctctgag agagcttct tgcgtgtca tgcatggca gaaggcaca gagaggcaa 31080
gagagagcaa aagcaattc acagcatcaa tcccttttat aatcagcat actctattaa 31140
tgagggaag acctcatgg cctaatacc tctaaaaggt cacacctct aatactattg 31200
caatggtaat taagtctta atacatactt ttgggagac atttcaaac tatagacct 31260
acctatagc ccaacattc tactcctagg agtaigccct agagaaatt tgcataaata 31320
tctaaagaga ggccattgt gattgttag gtaciggaaa attggaatca attactatgt 31380
ctaccagcag cagaagatgg ctttttaaaa gtttgggtt attcatgaaa tggaatatg 31440
cataaaglat gctccatct accagatgaa aacattttc actaggacta ttcaaaagi 31500

agcittaica cigggcitct ctattatgca taaaaatitit aagigaacat gticittigac 31560
ctagtactcc tacitttagg aaittgccca aaagggacaa ttataciact gggataaaic 31620
ttigaatcat aaagtaagtt glaaatggia caagcagiat gtcttatitit tatttaaagc 31680
acattaacaa tatiacacat atagtaaaaa ataaataaat aaaacatgig aataataaac 31740
acccaattia gaacaagtgt igacagtga gagggaaaga gagagaaaga aggagaaatg 31800
gggagtggga gcgggtacac aaggaaatit tagttgcagc tccaaatitit tacittttac 31860
acaatgaagc gaatatggca aaataagatt igitaaagtt gggcagcagg tacacagata 31920
ttctatcatt atcctttgaa tatttcigia gaittaagtt gtccattaaa aaaataaaat 31980
acacacataa tittiaagat tagttttitc taittccigg ccttcgcatg cactgttaac 32040
tttacctgga attcittatg cagtaattaa gagcaaaggt gtagagcaag actgcttgag 32100
cttggatccc agcacigagt tgatttaggg agaataactt aatctcttaa icccaagaga 32160
aaatatgata taatagtitt gagctcataa agttttcata agcattaaat gtgacctata 32220
tatgtaaagc aatciaacag tgcctatagt atttataagt gtctgcatia ccaaattcat 32280
cattatcatg gcatgcatg tcaccatcca ctacattacc atcactgtca ccatcatcat 32340
catcaccacc accatcatca ttaactccct ttgtctagtc aattcatait tgttcttctg 32400
atttagata ccgttaaaa tattttttca aagatgtcta ctctgattct tcagtacaaa 32460
ttigatttaa taagatccta tcattttgtc caaatactta taaaaatttg tagttctata 32520
tttaagtgt ttgtttgtt taacatctct ctctacatt gtgttaagtt ttttaaagag 32580
aaggtaaggg ttaaagagag acatagagag agaaagagag acagagagag agagagagcg 32640
gttctacagc aatacaggta tattagaaaa acctgcaaag gtggggacca gcttaatgcc 32700
agagccccc actgcttata ggctggggia cttataggic tgggggtact tataggcctg 32760
gggggtggg gtctgagcag taaggcttgc tgcccaagaa gatgttgata agacgttccc 32820

atgatgaggc agtttgggcc ttgcctccat agagigtgat gcttcttgca cttttccca 32880
gcagaatgig giagggatgi tccttcaggt gggcccttgc ctggcagggt atgataagga 32940
tgttccctgig ccttggaaac aggtagttag acaggatgtt tctcacagcc tgaaccccca 33000
tggaatgttt cactttgacc agggctcgcg aaatagcagg gggcttaca aatgggtgiag 33060
ttiggactaa caccttggaa cacaaaagtt tcttggggcc aaggctggcg taitagictg 33120
ttttcaigct gctagtaaag acatacctga gactgggttaa ttataaaga gaaaagaggt 33180
ttaatggact cacaattcca catggctgga ggcttcacaa tcatgaggga ggcaaaggag 33240
gagcaaaggc acgtcttaca tgggtggtagg caagagaacg tgtgcagggg aactgccctt 33300
tataaaacca tcagatcttg tgatacttat tcactatcaa aagaacagca cgggaaaaat 33360
ctgcctccat gattcaatta cctcccacca gattcctccc atgacatgtg glaattatgg 33420
gaactacaat tcaagatgaa atttgggtgg ggacacagtc aaaccataac agctgggtat 33480
gtttatttca cctttttata ccatgtgca tgtctcttgg acaacaatg gatgtaaaat 33540
ggtatagact cctgagiact catttgttga atgacaaatc tatgaacct atgaccagta 33600
tgcagcagcc attaaaaatg ttgttaigaa taatttacag catggaaaaa ttigggggtt 33660
ctagtagaaa aacaaaaagg tacaaaagga tatatataat aagcctacaa tgccatataa 33720
acaatactaa cagcaaaaac aaacctataa attgggggaa gatggggcag atagaagtaa 33780
cctaaaatac taacatgttg ttttgggttc atgaaattat aaatgattat gcacccctta 33840
atttttactt tctatgttgg atttttctat ggtaaaigca tttttatiga ggttgaattc 33900
acataacaig aaatgaaaaa tttagtggca ttatttatat tcacaatatt gtacaaccac 33960
tagctctact tccaaaacat ttcatcact ccaaaataaa accttgtacc catlaagcag 34020
ttactcccca ttatttcttc tcttagctcc tagcaaccac caacctgctt tctgtctcta 34080
gggatttatt tattctggat attccataaa aatggaggca caatatgtac cttttatgtc 34140
tggcttcttt caccaagcat gttttgagg ctaatccaca ttgcagcatg tatcagtact 34200

tcatttciti ttaigaataa cigtatacag accacaatii gttatccatt ttttggitta 34260
tggacatttg ggttgittcc atctctcaac tatttgaat agtgctgcta tgtatatttg 34320
tgtacaagaa tttggttacc tatittcaat tcittttaigi atatactaa gatgaaattg 34380
cagggttata tgcataacct atgtttagca tttttttta ggaaccatta aactgttttc 34440
caaatctgat gccccatttt atattcctac tagcaatgta agcaagtcc aattcticca 34500
tatctcaac aacatttgtt atttctiatt ttgttatag ccatttcaat gagtgtaaag 34560
tgtatataca ttgtggtttt ctitgcattt tccttaigaa cattgaigt gagtaccttt 34620
tcatgtactt ttggtcatt tataatacat ctitggagaa atgcctcttc gtgtatgttt 34680
tgcccatitt aaaactagat tgcitttgtt gttgacaigc atgcattctt taaataitct 34740
gcalactagg cccttatcag atatatgatt tgcaaatgtt ttttctcatt ttactggctg 34800
tcttttactt ttattgataa tgcctttga tgcccaaaag ttgtttattt tgaagaagca 34860
tatttatcaa tttatttctt ttattgctca tgcttttgat gtcacctcta agaatttata 34920
accaaatacag aggtaatgaa ggttiacccc tctattttct tctaagagtt ttatagtttt 34980
gactcattha cttaggtcgc tgattcattt ttagttaatt tttgcataig atgtaggaa 35040
gaggtecaac ttactcatt tgcatttgga tattcagctg tgccagcacc aittgtgaag 35100
agtcatacat ctctcattt aataatagta ttgacacctt tgttgaaagt caattgataa 35160
taaatgtatg agtttatttc tggaactaa attctattcc attgatctac atgtctatcc 35220
ttgtatcagt atcacactat ctgtattact gtagatttgt agtaagtttt gaaactagaa 35280
agtgtagta ctgcaatatt ctctttttc ttttttaaag atgtcaggg cccttgcaa 35340
tttaataggg atatgaggat tgactttctt attctacaaa attaaaattt tgttagagat 35400
tgcaatgaca ctgtaggtag ctctcagtaa cattgccatc tcaacaattt taagtattct 35460
aatacatgaa tatgagcttt ctctctctt atttaggtct tcitttaatt ctctcagcag 35520

tgtiltgiag ttttggggtt caagtcitc accittaaa tttggtagaa ttatttccia 35580
ggtaittgat tttttatgc tatgtaaaat aaaattatt tctcaattc ctgttggatg 35640
ttcattgcag gtgtatagaa actcaaciga tictttgtgt tgaicttatg ctgagaccag 35700
ctcagttggg gagaccctaa cctagaagca ctgaggaat taaagacaca aacacagaaa 35760
tatagagggtg taaagtggga aatcaggcgt ctacagcct tcagagctga gagcttcaaa 35820
cagagattta cccacatatt tattaacagc aagccagtc ttagcattgt ttctatagat 35880
attagattaa ctaaaagtat ccttatggg aaacgaaggg aagggtgaa ataaagggat 35940
gggttgggct agttaictgc agcaggagca tgtccttaag tcatagatca ctcatgctat 36000
tgtttgtgtt ttaagaatgc ctttaagcgg ttttcgtccc tgttggggac aggtgttctt 36060
tgccctcatt ccggtaagcc cacaacctc cagcgtgggc attatggcca tcatgaacat 36120
gtcacgggtgc tgcagcgggt tttatggcca gttttggggc cagtttatgg ccagattttg 36180
gggggcctgt tcccaacaat ctatacctt gcaattttgc tgaatttgc tgttaacttt 36240
gatagttttt ttgaggatta tttgggattt tctacatct atgtcatctg tgaataaaga 36300
tagttttgt tctttcttc tcatttggat gccttttatt tcttttctt gcctaatttc 36360
cctggctaga acttccagta tgaatttgaa taacctgggt gaaatgggca ttcttgtctt 36420
tttctgatg ttgagagaaa atttttcagt ctttaacct tgaatataat gttagctgtg 36480
ggttttttac aaatatcttt tatcatgtg aggaagtcc ttctactcc tacttcttgg 36540
agtgttttg atataaaggg tatttaattt gtcaaatgct ttttctgtgt cagttgagat 36600
tatcatgtga gattttttt ccttcatct attagtgtg atgttacatt ggttgatttt 36660
ttaigtgtga ctacatttc attctttata taaatttcac ttggatcatg tgtataaccc 36720
ttttaatatg ccattggatt tagtttgcta gtatttgggt tagagttttt gcattatatt 36780
tcataagcaa tatcagtcga caggtttttt ggggtttatt tgtctggctt tgcataaatg 36840
gtaatgctgt cttcttagaa tgaatgaggg agtgtttct cctctttcat tttttaaacg 36900

tttgagaagg agtgaatata atttttcttt aaatgtttgg tagaacctac cagtgaagcc 36960
gtctgtttct taacattttt ctgtgtttggg aggtttctga ttaccaattt gatctcttta 37020
atttttacag atcttttcag atttttctatt tcttcttgag taacttttta gcaattttatg 37080
tattttagaa attgtttcat ttaacttagg ttatttaatt tatgtgtgtg cattttttca 37140
tagtattatc ttataatctt ttaatttttg taaagttagt aatgtcccca ccttacctga 37200
tcttagttat ttgtgtcttc tctgtattct tttgtcttc tcttctgtc ttacatagc 37260
taaaggtttg tcaactttgt tgaatcttta aagagtcac tttgtcttc agcatgcatt 37320
actttttaaa tagaaatata tacacctag ttgcatlaca aaggagtgtt cctccacaca 37380
cttattcttt cccacctca gaggtttatg gtcccgcaa aagtcacct cagtgggct 37440
caactccaat cagtcatgtt aggtcaggtt ccatctcatt gtctccatca ctcatgcca 37500
cccagggtaa gtctaactat gttaccaat cagaacctt gccacatcag ctctgtgggt 37560
ttctctcat gccatctga ccaacaatga gcacagctg ggtttctga tgtttctat 37620
agcatgtgtc ccttccttg gacacctcag aagccacaat gatattcatt aaactcttc 37680
ctgcaagtac tccctctatt gctcttcta ctaccaagc ttatgttcag ggaatatgt 37740
gggtggggagt atgaatctta gcttctcact cccagactg gctccaacc tgcgtgtgc 37800
aagctttggg gacatctata aatgcttct aaatacctt cttggcctat cccagccac 37860
agattcctc ctagagcagg ctacctctga ggcatctata ctgagatctt aatcacagag 37920
acatttaaaa catctaggct acaaaagaat tcttactata ggttcaaat gaatttcttt 37980
ccgtcacttg agacagcttt tttagcaagta catgtattaa agattctgat tttccctttt 38040
ttctctaca gttgttttg cctaaaggta tgacatctaa tctgtctgat ttacactcta 38100
agtcaaaatt accattttgt tcttttaatt tctatttcta atcatacatt ctgtctact 38160
cctgtttcat ctggagacaa agtgaactt agaagatgga ggagaaattc ttatctgccc 38220

tcigctagtt gacatticct ttccaagaat catttgcagt tgcaggcct tcttgcigtg 38280
actciatgcc ctgttgtgtt acitititcat ttgtgacaaa aacagtggta atagtittgt 38340
tcatititai tatgaagaci tgaccaggat aggttagaac ataattacig cttititcigt 38400
gggcatcata ttgttcaga tcatgtttaa ccagaatga agatgtaaaa tccitagaact 38460
caciaatcta ttttagtagg tcacaggaag catgcaaacc ataaaaaccg caatgaacca 38520
aaagcatcig ttgtgacaag aggcaagaat ttctctatit tctaaaggca ctaactgaac 38580
aaatctattg cccattacit aggaaatgc taagggaac gttaaagtac ttacaggcigt 38640
tgaaaaacct ttctgtcct ctgtcccccac caccaatcti cctagctat gctttctctc 38700
acatgttcti gccatccatg gagtggcaga gaggttctga gtacaactct aactttcagt 38760
ttcaatggcc taatcccaa ctcaactgct gacctigagt glaaaaataa acaagatcti 38820
aaacatctta gggccagcat tctgggtcct cttttgttat ttggggagca taaactattc 38880
tcataicatt ggcttgcaga aaaaitgagc ttctctctt cctgtcccca tgtcaccttg 38940
aggtgaccac agccctgcct tctatgtaat cctgtttgt cagcaggcac atcagagctc 39000
agtggcttgt gacatactit ccttcaagcc tgcctgaagg gccatactca tcatigagac 39060
tgggaacctt agaaaccaig aaccacagtgc caatgggtag atacagaatt ctcaaactca 39120
tgaaaaaaca tcttttttaa ctctctccgt gtgcataaag aattctaaga tgtactgatc 39180
aagatccca attttctaac tatctattaa tataaggacg aggttaagaag aaagttgcaa 39240
gaaaaaaatt tgtttgactt gacggttgtg tggttatttg ccacaccccc ccagatccac 39300
tctgagtcct aggatgtga ttttaggggc tacattgcct agactgtcca ttattccctc 39360
ttcccatctg gtacagtcac tgggaagcac tggtaggagg tcagagtggg agaaggaggt 39420
taggalacti tcgtcccttg ctgtctact gctttgtga actctagca gtggctgagc 39480
catcaacctg cagctctcaa ttccagctgt ctgtagcact caagtggat tgtttattct 39540
tttgatctt ctagctgta aggaagaaaa aaataatttt ttctcaatg ctcataagtt 39600

cttggaaatgg acccctgtaa caaaagacag ataacacga gaaaagttaa ttaacgiaca 39660
tatittatag giatatagga gctatccagg gaatgaataa ticttataaa ggtgactttg 39720
aatccagct catatagcat cttaacaaa gticagtaac attttagaga tatgacaaga 39780
caaagaaaat gaactttgag cccttaggga cagtacttg taggaaggca aaaggaataa 39840
atggaggtaa aggcctgtta gtaatacttg ttaataga ttcctctggt gccatctcca 39900
ggccacaag gatttaaat tgccttcagt gggaacctt tgcctacctt ggcagaaggt 39960
gtggaggggg gtcagatcc gttttgtctt tgaagtcta tatctgctt ttagacaaa 40020
aaaggagggg aaaagagctt tcttcaatc gcttctaat tgccttcagc tcaacaatcc 40080
ttaigcaaaa gaggtacatt ttaggtgtc aaattctggt ctcccacaaa gcataggat 40140
gacagaccac ctacatcc ctgtgtctt ttttaagctt gctacacctt ccaaaaatat 40200
tttattctt tactgtctt tcaaatctc agcggagggt gccctctgtt atctgacctt 40260
ctgtgtcagt ataagcaaaa ggtttgaatc ctggctctc aactatctac ctctgtcctt 40320
ctctgtttt atgaattac agggctggag acaagaatca caatgtgaag acaaatgtg 40380
agagcggctc taatcagca gagcaaat tctggctctt gctctctccc atctgggtt 40440
gaatcatagg aacaggctgc aagaatccag ggtcaggaga ttcagaagt ggcagcaagc 40500
tcagtgttac caggctagg atgacctgc ttattatga atctcagag atatgtcca 40560
atccggccc agagacacat tgagagaca ctggggaact tgcatagtt ctgaacaggc 40620
aatgagctgt ctccaagaa aaaaccag agccttaag tctcaggct tacttagcac 40680
atataccagg tcttacacag gacacatgt tacaactgac tgaatctgg gctgggtgt 40740
ggagctaca ctgtaatcc cagccctca ggaggctgag gcaggcagat tgcctgagcc 40800
caggagtctg agaccagccc gggcaaatg acaaacccc atctctaca aaaatagta 40860
ggcatggctg catgacctg tagctcagc tacttgggag gctgagatga gaggattgt 40920

tgaggttgag acigcagtga agcatgatca igccaccgca ctccagccta ggcaacagag 40980
caagatcttg tcgcaaaaga aagcaaaaac acaacataac acaacaacaa caacaacaac 41040
aacaacagca aaaaagccaa ctctctgaaa tctggaaagg acacctggac tggcctgagc 41100
attgatgtgt tgttggcctt agcagiggat gcatccttca acctctggca ctctgcaggg 41160
ctcagactgt tctgttctgt ttgttacctg tggagtgcct gccagacctt gctctagctg 41220
ctttaggicc atttaccctc atagaccccc agtcttgta ttcatatttc atatttggga 41280
aatggaaact tagaaacttg ccaagtcac agcatgagat cctgccctcg gtgtctgctg 41340
gattccagaa agtgccaggg gccaacctag atgacacat gtctctgca caatcttagg 41400
aatgctccta gtctgatgc cccattgcaa aatttacct atcttttaac aaaacgtctt 41460
tccaaggagg ggcatttaaa ataactgagg ttcttcttgc taaggacgtt cctgacacaa 41520
gagataattt agcatcttct ttcatataaa aagtttgaag tctgttaatt tgtgataatg 41580
tggaigaacc tagaggatgt taagtgaat aagccacaca cagatagaca aataccacgt 41640
gatctcacic ttaigtggaa ttttttttta aataagttgc ttagccgggc atgatggcac 41700
acacctgtaa tcttagctac tcaggaggct gaggtgggag gatggcttga actcagaagg 41760
tggaggtagc agtgagctga gactgtgcca gtgcacccg gtctgggtga cagaatgaaa 41820
cccaatttaa aaaaaaaaaa aaagttgcta tcttagaaaa agacagtaga gcagtggta 41880
ccagagactg gggaggaaag agaggagggtg agaattggca gcagttgatc aacgggtaca 41940
aagtiacctt gagataggag aaacaagtgc tgggtgcctg ctccaagtag ggtgacggta 42000
gtaataatg aattctgtat atataaatag ctagaagaga gggttttcaa tatcattatt 42060
atttcaaaag aaatgataaa tgtttcagag gatggatatg taattacctt gatttgatca 42120
ttgcacaatg tatacatgta gcaaaacatc acattgtgtc ccaataatat atacaattat 42180
tatgtgaatt aaataaaaaa aaattttaaa gtcttaicta aatgaaattt ctaaccagat 42240
tctgaatcca tgataccact gaaaccagca cacatgatcg cagttaaacc tcattatact 42300

tcctccacta tcaccaatac cctttatcti ctggaacatg aaacattctg ttgtgctcat 42360
aicatgcaaa ttatcaciag taggagagca gagagiggaa atgttccagg tataaagacc 42420
cacaagataa agaagctcag agtcgttaga aacaggagca galgtacagg gtttgcccta 42480
ctcacactca aggttgcata agcaagattt caaaattaat cctattctgg agacctcaac 42540
ccaatgtaca atgttcccta ctggaaaaga agaactatat tttctgatt tttttttca 42600
aatctttacc attagtggc ctgtatctcc gccttcactt tctgcaggaa actttattc 42660
ctacttctgc atgccaagtt tctaccctca gatctgttg gttcagttgc tgagaagcct 42720
gacataccag gactgcccta gacaagccac aagctggtag gtgttaggca ttttttccat 42780
tactttctga ttcataggct caacgcacct caaagctgga aatgccgggt ctgggtacac 42840
cctggggaac tgcaaagcct gcacacttgg gggaaatgat caagatgaga ggcaggggtg 42900
gggatggcat gtgcaccagg agatgttaga gaaaccctga ggaagagcag cgtgcagcag 42960
gtgatggggg agagtgggca gcaagcgagg ccaggacagc cactctgctc agtcaccagt 43020
ccacacaccc aggggctcac tctgcccctc tgagcaccca aggacgttaa agagctggaa 43080
ctgttagctt aaatatagga ccatccaagc tctgaaccaa aatgtgtccc ttgcctcaac 43140
tcaggagatc cacagaggca gaagtaagga atttatttc tgaaagatag atttctatca 43200
gttctgggtg acatgttctg acacttgaaa tgacacctag gacagcactt tttaggcatc 43260
ttgtcatig ttactgttag tagaagctac atgctagcca gtgttaaaaa tgaaattaag 43320
taatgtgtgc acagcattta acatagcatc tgagcttcag gagcactcaa ttaatgacca 43380
cagttlgat tctttaggca gatgcatttt ttccaactt tgatcagagg tcttatttag 43440
cttctccaga ttcaagaat ctggctcagt gatatgaaat acaagacttg tgaaaagtgt 43500
caattgcaag agaaatggaa ggataaagta tacagggtggg tggaaaagaa attcacagtc 43560
actgccagaa aaaaaattct tgagaatcaa gtccgatga tgttagggct tatagtctt 43620

attataaaga gttttaigia ctcattcagt gaacatttat tggcgccicc tttagccagg 43680
tactatcata agagctgaaa ataaaagcat aatccagicc ttgaicttga ggaacaigct 43740
gtgigttagca galaacataa taagtgccta tctagatgca tgcagtgta tgigataaga 43800
gtaataigac agaggataca gattaggcct cacagagaag ggggatitga gcaggaggta 43860
ttgaagggtg aatagaagct caccaatcat tttgggcaga ggggcaagga cctgcaaaac 43920
cactgaagca tgaaggaaat ggtgagtta gggaaaatga agagaagaig gctgtgactg 43980
aagcacagga tttgggatig gagaaggagc tggaggtag gctgagaaga ggcaaactca 44040
gaaaagatgt tgigtgggc agictggaca ttatcttga agcccaccac atataagtca 44100
tagggctact ggaggttita agctaaaagt gactattcaa ttcaactta agagaagata 44160
ggttagagg gaacatggct tgagatgagc catgagcaa ggaaagacta caacaaagcc 44220
aggagtgagg agtgttgaa gcaagaaagt gacagtgaa agcagtcag aggggatgaa 44280
tcigagaggc atctatgagg tggaaactca atgacatgat aataalacag ggcatttctc 44340
tgtgtcagat gctgtcctaa gtccttactc cattgatctt cacagcaact cagcatagtt 44400
aatattttat gcataaagaa atcggcacct gaaggagtaa ttggccccag attacactgc 44460
ctataaggat tcaaatccag gtttgtttgg ctccaaaaac tggctcctaa tttcagaag 44520
gagaagcgac ccagggaat gcccaatttt gcttcttagg caatggagga atccacaatc 44580
ggaaggagtt ttcagcagtg cccatttgg ggtgggttga atttgaggic cctgcatgat 44640
accacittg ctcattcag tgcctaaaac tgagtaagg tcatagtagg gticaataa 44700
gtgttgaigc agtgaataca tgcatgggga gatatgcatc aggcaatggg aaattcaact 44760
ciaaggctta ggggaaagct ggagcttgaa gacagagctt tagaaaacag tagcatagaa 44820
gggagtagga accatgagtt tagacaatac aattcaggaa gaactitga gcaaggataa 44880
agaggcaaaa aattaaagag gtgagagcta agtgtgtgc ctggggaatc ttaagggtgt 44940
ggcacgggga ggagatgcca gcaaagaaca tgaataaaaa gcggtagcac agcccctccc 45000

alcitggaagc caaaaagaat iglaaaatgga ggaagtiagc agaaggatca aatacitgaa 45060
gagggitggaa itggaataaa accagggcat itgaaaaatt gggtitgicac igcaaictta 45120
acaagagaag tttitggcagg atgatggagg cagaaagctg agagaatcat cagitagaac 45180
gtttitgact tcagagaaca gaaaatgcag ttcataatgg cttaaaaaca ggggctitgt 45240
tttctccag caattigaga ggccaaggcg ggtgcatcag gaggtcaaga gaccgagacc 45300
atccitggcca acaitgtgaa tccccalcic tactaaaaat acaaaaattt gcggggcatg 45360
gttggtgcag cctatagtc cactactica ggaggctgag gcaggagaat cactigaacc 45420
caggaggtgg aggtitgagt gagctgagat catggccact gcactatagc ctggagacac 45480
agcgagactc cgtctccaaa aaaaaaaaaa aagaaggcag aaggtgaata gtcaaggtt 45540
gggttttaga ctcatgata ataggattct gcctggcttc tcaiggttct ctaggcttc 45600
cattcatggc accatgccct cactaggcat gctgccagag caggaggggc aggtggaggg 45660
ttctcttgig tctgtcttat caggaagaa gagctttctc agaagcccc agcagactcc 45720
ctttcatai tatgttccag caatgagta cagacctatg caccacctgc aaaggagcca 45780
gagaaaacaa acgcccagcg cttitaggct gaaaatgaga atciggittg ctggggaaga 45840
taaagggtgt cggaaaatgg ctgttggta aatcatgat gctgccact aggaatgaaa 45900
ggcaaatcag gaactggcac aatgccttc agggagatgg ctgcaaggga gagggcaaag 45960
actgggaagt tgcctatgtg gtgccagact atttgaaga tcatggattg cggtgttgt 46020
gttgtgtgt catcatitg tttitgttt acagaacaga gaaagtgat tgaacaagga 46080
cgcatitccc cagtacatcc acaacatgct gtccacatct cgttctcgtt ttatcagaaa 46140
taccaacgag agcggigaag aagtcaccac ctttttgaat tatgattacg gtgctccctg 46200
tcataaaatt gacgtgaagc aaatggggc ccaactcctg cctccgctct actcgttgtt 46260
gttcatcttt ggttttgtgg gcaacatgct ggtcgtcctc atcttaataa actgcaaaaa 46320

gcigaagtgc ttgactgaca ttaccctgct caaccctggcc atctctgac tgctttttct 46380
tattactctc ccattgtggg ctacactcgc tgcaaatgag tgggtctttg ggaatgcaat 46440
gtgcaaatta ttacagggc tglatcacat cgggtatitit ggcggaatct tcttcatcat 46500
cctcttgaca atcgatagat accctggctat tgtccatgct gtgtttgctt taaaagccag 46560
gacggtcacc ttgtgggtgg tgacaagtg gatcacctgg ttgtggctg tgtttgcttc 46620
tgtcccagga atcatcttta ctaaatgcca gaaagaagat tctgtttaig tctgtggccc 46680
ttattttcca cgaggatgga ataatttcca cacaataatg aggaacattt tggggctggt 46740
ccgtccgctg ctcatcatgg tcatctgcta ctcggaatc ctgaaaacc tcttcgggtg 46800
tcgaaacgag aagaagaggc atagggcagt gagagtcac ttcacatca tgattgttta 46860
ctttctcttc tggactccct ataacatgt catctcctg aacaccttc aggaattctt 46920
cggcctgagt aactgtgaaa gcaccagica actggacca gccacgcagg tgacagagac 46980
tcttgggatg actcactgct gcatcaatcc catcatctat gccttcgttg gggagaagtt 47040
cagaaggtat ctctcgggtg tcttcgaaa gcacatcacc aagcgcttct gcaaacaatg 47100
tccagtttc tacagggaga cagtggatgg agtgacttca acaaacacgc ctccactgg 47160
ggagcaggaa gtctcggctg gttataaaaa cgaggagcag ttgatgtt gttataaag 47220
ggagataaca atctgtatat aacaacaaac ttcaagggtt tgtgaacaa tagaaacctg 47280
taaagcagg gtccaggaac ctcagggtg tgtgtactaa tacagactat gtcaccaat 47340
gcataacca catgtgcica gggaataatc cagaaaaact gtggtagag acttgactc 47400
tccagaaagc tcatctcagc tctgaaaaa tgcctcatia ccttgtgcta atccctttt 47460
tctagcttc ataattctt cactcaatct ctgattctgt caatgtcttg aaatcaagg 47520
ccagctggag gtgaagaaga gaatgtgaca ggcacagatg aatgggagtg agggatagt 47580
gggtcagggc tgagaggaga aggagggaga catgagcatg gctgagcctg gacaaagaca 47640
aaggtgagca aagggtcac gcatcagcc aggatgat atgggtcctt agccccatct 47700

gccacgigta tttaaccttg aagggttcac caggicaggg agagtltggg aactgcaata 47760
accitgggagi ttitggiggag tccgaigatt ctcctttgca taagtgcatt acataatit 47820
gctttattac agtttatcta tggcacccat gcacattaca ttigaaatct atgaaataic 47880
atgciccatg gticagatgc ttcttaggcc acatccccct gtctaaaaat tcagaaaati 47940
tttgtttata aaagaigcat tatctatgat atgctaatat atgtatatgc aatatatata 48000
ggctcttgct tgaictctcc aggaggiagt gattatgaga aggggggtga gaatgatgag 48060
ttccttcacc aggagcaaag gacggggatc gttgtgaacc actgcagaac tatttccgga 48120
atcaactaag tggagagagc caggaaggct gcatcagaac ccagtaaagc ttcttgtctg 48180
gatctgagct ggtttgtttt gtgcttgctt ttccttgctt tgcctctcc ctcactcttc 48240
tcctttcccc acagcctttt tcacatagct cttggctgta ggattgcccc actccaaaaa 48300
ccagtgtgtg gaggtccagg agtgagacca ggaaagaatg tgaagtgcac tacacaagga 48360
ctctctgatg gtctgtgaaa aggaaagica attggcagag cccctgaagc cagctctcag 48420
gacaaagaag gagcctagag acagaaatga cagatctctg ctttggaaat cacacgtctg 48480
gcttcacaga tgtgtgattc acagtgtgaa tcttgggtgc tacgttacca ggcaggaagg 48540
ctgagaggag agagactcca gctgggttgg aaaacagtat ttccaaaact accttccagt 48600
tcttcatit igaatacagg catagagttc agacttttt taaatagtaa aaataaaatt 48660
aaagctgaaa actgcaactt gtaaatgtgg taaagagta gtttgagta ctatcatgtc 48720
aaacgtgaaa atgctgtatt agtcacagag ataattctag ctttgagctt aagaattttg 48780
agcaggltgt atgtttggga gactgtgag tcaaccaat agttgttgat tggcaggagt 48840
tggaagtgtg tgaictgtgg gcacattagc ctatgtgat gcagcatcta agtaatgatg 48900
tcgtttgaat cacagtatac gctccatcgc tgtcatctca gctggaictc cattctctca 48960
ggcttgctgc caaaagcctt ttgtgtttg tttgtatca ttatgaagtc atgcgtttaa 49020

42/67

```

tcacaticga gigtitcagt gcttcgcaga tgccttga tgcatalig ticcctatit 49080
tgccagtggg aacicctaaa tcaaattggc ttctaataaa agctttttaa ccctattggt 49140
aaagaatgga aggiggagaa gctccctgaa glaagcaaag actttccct t agtcgagcc 49200
aagtaagaa tglcttaig ttgccagtg tgttctga t gtagcaag caagaaacac 49260
tgggcttcta gaaccaggca acttgggaac tagactcca agctggacia tggcttact 49320
ttcaggccac atggctaaag aaggtticag aaagaatgg ggacagagca gaactttcac 49380
cttcataat ttgtatgac ctaatgaat cataaaagt taagttagg gtgatgaaat 49440
gtaaaacttg ttttaacaa ctatgattg gaaaataaat caatgctata actatgtga 49500
taaaagattt aaaaacaact ggctgtttt ttacacttg gtttggaaga ttgtgttg 49560
ttcacaactt ttactttt cccctgttg attacacaca cctgccctg tgggtgact 49620
tgcagtgcgc cctacaggcc acacaacccc atgcccctca ccactggc tgcgtcgga 49680
atgtgagcag aagtacatc tgcctcatc aagcagagcc tcttgctcag ccacaggaag 49740
gcccattcca gatcacacc gtcagccgt gcgccctgg gaatgagaag acacaggag 49800
ctgcagccac atataacatg agcaagaat ctgtgtttgc tgtgataag cactgagtt 49860
taggggttgt ttgttaagaa gcacaaaaac cgattaaagac atgttgtata tagtgactt 49920
atataataga tctggaaaac tatccattt ttttcaatca tggaaatcaa tatgacaag 49980
atcccgagg gtctacctat 50000

```

```

<210> 3
<211> 6065
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (5763)..(5763)
<223> n stands for any base

```

<220>

<221> misc_feature

<222> (5834)..(5834)

<223> n stands for any base

<400> 3

clggcgggac agcagcgtgg acicagtcct ciagggattt cccaactctc ccgcccgttt 60
gctgcatctg gacaccctgc ctgaggccct catctccact ggtcagcagg tgacctttgc 120
ccagcgcctt gggctccicag tgcctgctgc cctggagaig atataaaaca ggtcagaacc 180
ctcctgcctg tctgctcagt tcatccctag aggcagctgc tccaggtaat gccccttggg 240
gaggggaaag aggaggggag gaggatgaag aggggcaaga ggagctccct gccagccca 300
gccagcaagc caggagaagc acttgctaga gctaaggag cctcggagct ggacgggtgc 360
ccccacccc tcatcataac ctgaagaaca tggaggcccg ggagggttca ctgcccata 420
gctacatagg ggggtgggct ggaagtggct ccaagtgcag gtccccctt caitcttcag 480
gcttagggct ggaggaagcc ttagacagcc cagtcttacc ccagacaggg aaactgaggc 540
ctggaagagg gccagaaatc acccaaagac acacagcatg ttggctggac tggacggaga 600
tcagtcaga ccgcagtgc ttgatgttca gcttggtggg tttctgctc catccaccc 660
acctccittg ggctcgatc cctcgccgt caccagtccc cttctgaga gccgtaiga 720
gcaggagccg gcccctactc ctctggcag accagctaa ggttctacct taggggccac 780
gccacctccc caggagggg tccagaggca tggggacctg gggtgccct cacaggacac 840
ttccttgcag gaacagaggt gccatgcagc cccgggtact ccttggtgtt gccctcctgg 900
cgctcctggc ctctgccgt aagcacttgg tgggactggg ctgggggcag ggtggaggca 960
acttgggat cccagtcaa tgggtggta agcaggagcc ccagggtctg tccagaggcc 1020
gatccacccc acicagccct gctctttct caggagctt agaggccgag gatgcctccc 1080
ttctcagctt catgcagggc tacaigaagc acgccacaa gaccgccaag gatgcactga 1140

gcagcgtgca ggagtcacag gggccacag aggcaggta caccgcctgg cctccctccc 1200
catccccct gccagctgcc tccattccca cccgccccig cctgggtgag atcccaacaa 1260
tggaatggag ggtctccagc cccccctggg cctgtgctct icagccctct ctttctcac 1320
agggcctttg tcaggctgct gcgggagaga tgacagagtt gagactgcat tcttcccagg 1380
tcttctcttt cctccggagc agtcttaggg ccgcgccgtt tttagccctca ttctcatitt 1440
ccttctcttt ccttctcttt ccttctctat ttttcttctt ttcttctttt ctttcttctt 1500
tttcttcttt ctttcttctt tcttcttctt tcttcttctt ctttcttctt ttttcttctt 1560
tcttcttctt tcttcttctt ctttcttctt ctttcttctt ctttcttctt ctttcttctt 1620
cttcttcttt ttttttaat ggagtcctcc tctgtcaccc aggcctggagt gcagtggctg 1680
catctggct cacigcaacc tccgtctccc gggttcaacc ctttctctg cctcagctc 1740
ccaagtagct gggattacag gcacgcgcca ccacaccag ctaatttttg tattttagc 1800
agagatgggg ttccacatg ttggccaggt tggctttgaa ttcttgacct caggggatcc 1860
tcttgcctcg gccctccaaa gtgtgggat tacaggcacg agccactgcg cctggcccca 1920
tttctctttt cigaaggctt ggctagagca ggttcttca gcccttttgg caccaggagc 1980
cagttttgtg gtggacaatt ttccatggg ccagcgggga tggttttggg atgaagctgt 2040
tccacctcag atcatcaggc attagattct cataaggagc cctccacctt gatccctggc 2100
atgtcagtt cacaataggg ttcacactcc tatgagaatg taaggccact tgatctgaca 2160
ggaggcggag ctgaggctta ttgtcactc acccaccact cacttcgtgc tgtcagccc 2220
ggctctaac agtccatgga ccagtacct tctatgactt gggggttggg gacctgggc 2280
taggggtttg ccttgggagg cccaccctga cccaattcaa gccgtgagt gcttctgctt 2340
tgttctaaga cctggggcca ggtgagcag aagtggttcc ttctctccc atctgcccc 2400
tgcccatcag tactctctc tcccttctc ccttctccac ctacccctga ctggcattag 2460

ctggcatagc agagggtgtc ataaacattc ttatgtccca gaaccggctt tggggtaggt 2520
gttatitict cactttgcag atgagaaaat tgaggctcag agcgattagg tgaccigccc 2580
cagatcacac aactaatcaa tcttccaatg actttccaaa tgagaggctg cctccctctg 2640
tcctaccctg ctgagagcca ccaggttgtg caactccagg tgggtctgtt tgcacagaaa 2700
acaatgacag ccttgacctt tcacatctcc ccaccctgtc actttgtgcc tcaggcccag 2760
gggcataaac atctgagggt acctggagat ggcagggttt gacttgtgtt ggggttccgt 2820
caaggatctc tcttctccca ggggtggcagc tgtgggggat tcttgccctga ggtctcaggg 2880
ctgtctgcca gigaagtga gagggtgggt tggctctgac tgggtctgtc cagtggggac 2940
atgggtgttg gtccatggt tgcctacaga ggagtctca tgcctgtctc tgttcttcc 3000
cctgactgat ttgggggtg ggtgaccgat ggcttcagtt ccttgaaga ctactggagc 3060
accgttaagg acaagtctc tgagtcttg gatttggacc ctgaggctag accaacttca 3120
gccgtggctg cctgagacct caataccca agtccacctg cctatccatc ctgccagctc 3180
cttgggtcct gcaatctcca gggcttcccc tgtaggttgc ttaaaaggga cagtattctc 3240
agtctctcc tactccacct catgcttggc cccctccag gcatgctggc ctccaataa 3300
agctggacaa gaagctgcta tgagtgggcc gtgcaagtg tgccatctgt gtctgggcat 3360
gggaaagggc cgaggctgtt ctgtgggttg gcactggaca gactccaggt caggcaggca 3420
tggaggccag cgtctatcc acctcttgg agctgggcta gtctctgggc ctgatttct 3480
tcattcttaa ggtaggaat accctccgt ccttgcttc ctgacagct ttgtcgga 3540
gttcaaacag gacaataagt ttgtgatac ttgtataaac ttttaggtgc tgcacaacat 3600
gacttgagt tgtgccccat gccagccact atgcttggca cttaaagtgc atcagagttg 3660
agactgtgtg tgtttactca aaactgtgga gctgacctcc cctatccagg ccacctagcc 3720
ctcttaggcg cacgtgaagg gaggaggccg gatgggctag aggttggagt aagaigcaac 3780
gaggcactat tcttggctcc accactgat atcagccca gttcttaca tglaaagtgg 3840

atacaaccgi accccctcca ccgtaggiti gccgtgagat tgaatgaga gagcgticga 3900
accgtitggc acagcaccig cacgtaaaga tgcitgaica aigtigicat gattacagti 3960
gagctgacig ggccctlggg accggactgg agtggigggg ggcagtgicc tgggaccaa 4020
aagaagcaca aggtctccca atagaggcig cticctitgt gtccccacca cccgaaagat 4080
gicaggtcag agagcccgag agctgcagat ggctlgagta gggctccact cticagatca 4140
aaaaactgtg gcccgagag gcgaaggcac ttggccagca tcacagagcc agcacgtggc 4200
agggccagac ctigagccca ggtcagctgc gtgtattctg cticagttgt gcagaaaaca 4260
gtttgtcac tctatgtca ggtgttaggg actcctttac agatctcagt ggcatcagta 4320
catccagccc cacctggaga ctgcttctc tctgaaaati cccagggct tctctctggg 4380
ctgagagatc tcagaccccg tatctagaaa atgttccac ccagacctgg ctggaigact 4440
gcigtitgtag ctctggaagg ttaggaacta aaaagccac tcccttacct agggtagcta 4500
agatcacctg gagatgggga catggggatg gggccgatta tccaggggcc tgcattaggg 4560
ggcaaaaggc ctgacagaga gagggtaggg aaggcacctg cagatctgtg aagccatgtg 4620
cgtgcagcgg ggacattcag acatgagtc aaggaggac cgtgagcagg gaggcatgt 4680
gagaatacac aggcattcct gcacacccat gtgaacttga gtgccaggcc acacactctt 4740
ttttttttt ttttttttt tagctggagt ctgtctcgt cggccaggct ggagtcagt 4800
ggcatgattt cggctcacig tgacctctg cctccagggt caagcgattc tctgcctca 4860
gccttcctag tagctgggat tacgggtgca agccaccaat ccagctgati tttttitgt 4920
atitttagia gagacagggt ttacccatat tggccaggct ggctctaaac tcttggccct 4980
gaagtatac gccaccctca gcctcccaa gtgctgggat tacaggcttg agccaccgca 5040
cccgaccgc acactcttt caataatcat ggatggccag ggtgagagg tctaaaaagc 5100
gcctgcctagc ccatctgtct gttcactggg caagcgact cacaggcca ggcttcagt 5160

47/67

tccatcatcca tgcctcgcgt ctgatggcaa tctagccagg atgtggggaa gggaggatgc 5220
 agtgagagca cagataigag agcaicttgg aaataaaaat giacctgcaa gaggtggtgg 5280
 tgaatttict tactcaggcc agcttcigcc agggctggca gaaagagggg gtggcatggc 5340
 atggagccgc agggggigga ggactggctt ccactgcgtt gccigaggaa gccgcggctg 5400
 ttctcgggcg ggaaggaggt agtgggaggg ggatactggc ctgtgagaa gaaaaggga 5460
 ggtcctgttt gagaggtttt tgaattagta aaggaggaca ggcgcaaact ccaagcgctt 5520
 cacttgcacc cgggacaaaa cccaatccc agtggciggc tccctgaggc gccccgctcc 5580
 gtcccgcccg ctgacagcgg ctgggcigga gaaggctcia tacggacaca cctctgggga 5640
 cggggaaccg gactgcctcc agctaaagca accgcgtttt cctggcccg ctcagacagg 5700
 ctgcaggcct tgtttgagcc cctttcaggg caccctggcct tggattgctt gtggctttgc 5760
 ctngtccgtt gtgacttctt ttctacttga gccttgctaa ggcagactct actccctcac 5820
 tctgaagcag ccangcgtcc agcaggctct ccaacgtcga tcttggccct aagacgtcca 5880
 gtcctggcac ggagtgtgtg agatccggca ggaagtcctt gctccagggc caaaggcccc 5940
 tcccgggctc ccccggtatg ccccgacccc cctctatct tcccaaaaga aagaagctgc 6000
 tccccacttt ggaaacgttt attctgagca ccgggaaggg gggcggcggc gggcgcctca 6060
 ctggg 6065

<210> 4

<211> 1523

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 4

gggtcgtatgg gggagatgga gcaactgcgt caggaagcgg agcagctcaa gaagcagatt 60

gcagatgcca ggaaagcctg tgcigacgtt actciggcag agctgggtgtc tggcctagag 120

giggigggac gattccagat gcggacgcgg cggacgttaa ggggacacct ggccaagatt 180

tacgccatgc acigggccac tgattictaag ctgctggtaa gtccttcgca agatgggaag 240
cigatcgigi gggacagcta caccaccaac aaggigcacg ccaicccact gcgctcctcc 300
tgggtcaiga ccigtgccia tgccecaica gggaactitg tggcatgigg ggggciggac 360
aacaatgiti ccatctacaa cctcaaatcc cgtgagggca atgicagggt cagccgggag 420
ctttctgctc acacaggtaa tctctcctgc tgcgccttcc tggatgacaa caatatigig 480
accagctcgg gggacaccac gtgtgccttg tgggacattg agatgggca gcagaagact 540
giatttigg gacacacggg tgactgcatg agcctggctg tgtctctga cticaatctc 600
ttcatttcgg gggcctgtga tgcagtgcc aagctctggg atgtgcgaga ggggacctgc 660
cgtcagactt tcatggcca cgatcggac atcaacgcca tctgtttctt cccaatgga 720
gaggccatct gcacgggctc ggaigacgtt tcttccgct tgtttgacct gcgggcagac 780
caggagctga tctgtttctc ccacgagagc atcatctcgg gcatcacgtc cgtggccttc 840
tccctcagtg gccgcctact attcgtggc tacgacgact tcaactgcaa tgtctgggac 900
tccatgaagt ctgagcgtgt gggcatcttc tctggccacg ataacagggt gagctgcctg 960
ggagtcacag ctgacgggat ggctgtggcc acaggttctt gggacagctt ccicaaaatc 1020
tggaactgag gaggciggag aaagggaagt ggaaggcagt gaacacactc agcagcccc 1080
tgcccgaccc catctattc aggtgttctc ttctatatc cgggtgccat tcccactaag 1140
ctttctctt ttagggcagt ggggagcatg ggactgtgcc tttagggaggc agcatcaggg 1200
acacaggggc aaagaactgc cccatctctt cccatggctt tccctccca cagtcctcac 1260
agcctctccc ttaatgagca aggacaacct gcccctcccc agcccttgc agggccagca 1320
gacttgagtc tgaggcccca ggccctagga ttctctccc agagccacta cctttgtcca 1380
ggcctgggtg gtatagggcg ttggccctg tgactatggc tctggacca ciagggtctt 1440
ggccctcttc ttattcatgc ttctctctt ttctacctt tttctctcc taagacacct 1500
gcaataaagt gtagcacctt ggt 1523

<210> 5
<211> 1178
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (881)..(881)
<223> n stands for any base

<400> 5
ggggaagcaa aggagaagct gagaagaatga aggaaaagtc agggctctgga ggggcggggg 60
tcaggagagct cciggagat atggccacat gtagcggctc tgaggaatgg gtiacaggag 120
acctctgggg agatgtgacc acagcaatgg giaggagaat gtccagggtc atggaagtcg 180
agtatcgggg accccccctt aacgaagaca gggccaatga gagggcccca gggagtgaaa 240
gagcctccag gacctccagg tatggaatac aggggacgtt taagaagata tggccacaca 300
ctggggccct gagaagttag agcttcataa aaaaaatcag ggacccaga gticcttgga 360
agccaagact gaaaccagca ttatgagctt ccgggtcaga atgaaagaag aaggccigcc 420
ccagtggtct gigaattccc gggggtgatt tctctcccg ggcgtccca ggcttgctcc 480
tgctacccc acccagcctt tctgaggcc tcaagctgcc accaagcccc cagctcctt 540
tccccgcaga cccaaacaca ggctcagga ctcaacacag ctctccctc caacccgtt 600
ttctctccct caaggactca gctttctgaa gccccccca gtctagttc tctctttt 660
ctgcatctg tctggaagtt agaaggaaac agaccacaga cctgggtccc aaaagaaatg 720
gaggcaatag gttttgagg gcatggggac ggggttcagc ciccagggtc ctacacacaa 780
atcagtcagt ggcccagaag accccccctg gaatcggagc agggaggatg gggagtgtga 840
ggggtatctt tgatgttgt gtgtcccaa ctctccaaat ncccccccc gcgatggaga 900
agaaaccgag acagaagggt cagggccac tactgcttcc tccagatgag ctatgggtt 960

tctccaccaa ggaagttt cgcgtgtga atgattctt ccccgccct cctcgcctc 1020
 agggacatat aaaggcagtt gtggcacac ccagccagca gacgctccct cagcaaggac 1080
 agcagaggac cagctaagag ggagagaagc aactgcagac cccccctgaa aacaacctc 1140
 agacgccaca tccccigaca agctgccagg caggttct 1178

<210> 6

<211> 6152

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

tggatattgg gcggctgtg gcggcgggga ctgttgagg gtgggaggag gcgaaggagg 60
 agggagaacc ccgtgcaacg ttgggacttg gcaaccgcc tccccctgcc caaggataat 120
 taatttgctt cgggaatcgc tgcctccaga ggggaactca ggagggaagg gggcgcgcg 180
 tcttgagggg gcaccgcagg gacccccgac tgcgcctcc ctgtgccga ctccagccgg 240
 ggcgacgaga gatcatctt cgtccttcc tggtagcggc ggcggtgag aggagacttg 300
 gctctcgag gatcggggct gccctcacc cggacgcact gccctccgc cgggcgtgaa 360
 gcgcccga aaactcggctg ggctctctcc tgggtcagc agctgcgtcc tcttcagct 420
 gccctcccc gcgcgggggg cggcgtggat ttcagagtc gggtttcgc tgcctccagc 480
 cctgtttgca tgtccgggc cgcggcgagg agcctccgc cccacccgg ttgttttcg 540
 gagctccct ctgtcagcg ttgtgtgtg cgttggcagc atggcgagcc ctccggagag 600
 cgttggttc tcggacgtg gcaagggtgg ctacctgcgc aaaccaaga gcatgcacaa 660
 acgtctctc gtactgcgc cggccagcga ggcgtggggc ccggcgcgcc tcgaglaacta 720
 cgagaacgag aagaagtgg gcacaaagt gagcgcccc aaacgtcga tccccctga 780
 gagctcttc aacatcaaca agcgggtga ctccaagaac aagcactgg ttgctctcta 840
 cccccgggac gagcacitt ccatcgcggc ggacagcgag gccgagcaag acagctggta 900

ccaggctctc ctacagctgc acaaccgtgc taagggccac cagcagggag ctgcggccct 960
cggggcggga ggiggiggig ggggcagctg cagcggcagc tccggcctig gtgaggctgg 1020
ggaggacttg agctacggig acgtgcccc aggaccgcga ttcaaagagg tctggcaagt 1080
gaiccigaag cccaagggcc tgggtcagac aaagaaccig attggtaict accgccitig 1140
ccigaccagc aagaccatca gcttcgigaa gctgaactcg gaggcagcgg ccgtgggtgt 1200
gcagctgatg aacatcaggc gctgtggcca ctcggaanaac ttcttcttca tctagggtgg 1260
ccgttctgcc gtagcggggc ccggggagti ctggatgcag gtggatgact ctgtgggtggc 1320
ccagaacatg cagcagacca tctggaggc catgcgggcc atgagcgaig agtccgccc 1380
tcgcagcaag agccagtctt cgtccaactg ctctaacccc atcagcgtcc cctgcgccc 1440
gcacatctc aacaatcccc cgcccagcca ggtggggctg acccgccgat cagcactga 1500
gagcatcacc gccacctccc cggccagcat ggtggggcggg aagccaggct ccttccgtgt 1560
ccgcgcctcc agtgacggcg aaggcaccat gtcccgcaca gccctgggtg accgcagccc 1620
tgtgagtccc agcaccaaca gaaccacgc ccaccggcat cggggcaggg cccggctgca 1680
cccccgctc aaccacagcc gctccatccc catgccggt tcccgctgt cccgttcggc 1740
caccagcccg gtcagtctgt cgtccagtag caccagtggc catggctcca cctcgattg 1800
tctcttcca cggcgatcta gtgttcggt gtctggttcc ccagcgaig gcggtttcat 1860
ctccctggat gagtatggct ccagtccctg cgatttccgg agttccttcc gcagtgtcac 1920
tccgattcc ctggccaca cccaccagc ccgcggtag gaggagctaa gcaactatat 1980
ctgcatgggt ggcaaggggc cctccacctt gaccgcccc aacggtcact acattitgtc 2040
tcgggtggc aatggccacc gctgcacccc aggaacaggc ttgggcacga gtccagcctt 2100
ggctggggat gaagcagcca gtgtgcaga tctggataat cggttccgaa agagaactca 2160
ctcggcaggc acatccctta ccattacca ccagaagacc ccgtcccagt cctcagtggt 2220

ttccattgag gagiacacag agatgatgcc tgcciaccca ccaggaggig gcagtggagg 2280
ccgactgccg ggacacaggc atccgccctt cgigcccacc cgcicciacc cagaggaggg 2340
tciggaaaig cacccttgg agcgicgggg ggggcaccac cgcccagaca gciccacctt 2400
ccacacggat gatggctaca tgcccatgtc cccaggggig gccccagtgc ccagtggccg 2460
aaagggcagi ggagaciata tgcccatgag cccaagagc gtaicigccc cacagcagat 2520
catcaatccc atcagacgcc atccccagag atgggacccc aatggctaca tgaatgtc 2580
ccccagcggg ggctgcttc ctgacattgg aggtggcccc agcagcagca gcagcagcag 2640
caacgccgtc cctccggga ccagctatgg aaagctiggg acaaacgggg tagggggcca 2700
ccactctcat gtcttgctc accccaaacc cccagtggag agcagcggig glaagctctt 2760
acctgcaca ggtagctaca tgaacatgtc accagtgggg gaticcaaca ccagcagccc 2820
ctccgactgc taciagggcc ctgaggaccc ccagcacaag ccagtcctct cctactactc 2880
atlgccaaga tctttiaagc acaccagcg cccgggggag ccggaggagg gtgcccggca 2940
tcagcacctc cgcctttcca ctagctctgg tcgcttctc tatgtgcaa cagcagatga 3000
ttcttctct tccaccagca gcgacagcct gggtagggga tactgcgggg ctaggctgga 3060
gcccagcctt ccacatcccc accatcaggt tctgcagccc catctgctc gaaaggigga 3120
cacagctgct cagaccaata gccgctggc ccggcccacg aggtgtccc tgggggatcc 3180
caaggccagc accttacctc gggcccagga gcagcagcag cagcagcagc cctgtctga 3240
ccctccagag cccaagagcc cgggggaata tgtcaatatt gaatttggga gtatcagtc 3300
tggtacttg tctggcccgg tggctttcca cagctaccci tctgtcaggt gtccatccca 3360
gtccagcca gtcccagag aggaagagac tggcacigag gatlacatga agatggacct 3420
ggggccgggc cggagggcag cctggcagga gagcactggg gtcgagatgg gcagactggg 3480
cccgtcacct cccggggctg ctgcatitg caggcciaccc cgggcagtcg ccagcagccg 3540
gggtgactac atgacatgc agatgagtg tccccgtcag agctacgtgg acacctgcc 3600

agctgcccci glaagctaig ctgacatgcg aacaggcalt gctgcagagg aggtgagcct 3660
gccagggcc accatggcig ctgcttctc atctcagca gcctcgcct ccccgacigg 3720
gccicaaggg gcagcagagc tggctgcca ctctgctcctg ctggggggcc cacaaggacc 3780
tgggggcatg agcgcttca cccgggtgaa cctcagictt aaccgcaacc agagtgccaa 3840
agtgatccgt gcagaccac aagggtgccg gcggaggcat agtccgaga ctctctctc 3900
aacacccagt gccacccggg tgggcaacac agtgccctt ggagcgggg cagcagtagg 3960
gggcggtggc ggtagcagca gcagcagca ggatgigaaa cgccacagct ctgcttctt 4020
tgagaatgtg tggctgaggc ctggggagct tgggggagcc cccaaggagc cagccaaact 4080
gigtggggct gctgggggtt tggagaatgg tcttaactac atagaccigg atttgicaa 4140
ggacttcaaa cagtgcctc aggagtgac ccctgaaccg cagctctccc caccaccacc 4200
ccctcatcaa cccctgggca gcggtgagag cagctccacc cgccgcicaa gtgaggattt 4260
aagcgctat gccagcatca gttccagaa gcagccagag gaccgtcagt agctcaactg 4320
gacatcacag caggctgtt catggtgaca aagtcagaag acaaaactgc ttttaacctt 4380
gtcttgaat tctgttctc gcctcgtccc ctctctgtt tttccactg ctctctcagg 4440
gagaatgcac ttacattctc agggcataca agatgtcac ccacactgac attggcagag 4500
agtcaaaca acatgtagga gcagccacag gagggctttt tcgtttgagg aattcccaag 4560
tgaagtagtt actgcagtat ttttaacat atatcctatg ccagttctgc gttttgtaga 4620
gttctccgt aagaagctt attgtttgt tgaagtitt ttttactat atatttaggt 4680
cagccccigg aaggacagt ctacaaaaa taccgttaa cacaggggt aaaccttcc 4740
ttatctaaa ctatctaat agttctggg agcccttaag ggtgatccta tcaagtgtt 4800
ctctgtactt ttgtctgtg attcataat actagggcaa cataaacagc agcgggaagc 4860
attgatttct attcatctg ccctaaaaa atcaggagta agagctttt agaaatagt 4920

atttagagag aagtlacclat ctatllltgltg atcctctcaag aaagtaalia tgggtgacgt 4980
tctcclllttg ttcatgtacc aggallltgltg aaatattalt cacacaaccg acccaccatc 5040
ccacgggcct ggccctctctt glacaggata tgcaggaaac tctgtatgtg tctgggaccc 5100
allatlaaga gllatgggag ttcatcctag gatgtctgcc ttatagllat cctctcttct 5160
tgcactigaga cattacagat atcatlltggg ggctactata tatcttctgt aaaattactt 5220
ttatllgttg aagaagaatg catactaagt caggaacaatg ccitaalltg llltgtlltg 5280
caatlgagta gaagggtctaa actgtatccc tccactllta gggllatllg cctgtgtgcc 5340
tllaagttca aaagtagaca ccacaglaaa tgcigaaagt tggcittagg tcttctgtgg 5400
claatgccgt allaaaaatg aaaaacattt gttgtagaaa ttaggctgcc ctctgttctg 5460
ttgatcctgt tllctgggtg tcataallgt gggtagaaga gatlacagtt tgcataaat 5520
glgatgagtt ggcaatgcag aagtllccag catttggaaa cacittactc tgacaaactg 5580
attacltltg gaatlltalc taigtctcac agaatgagct tllaaaagca ctgattlltc 5640
tlaattltgt tccattcata agaaatlaat ctgtgccctg glltccatll gacaggtatt 5700
tattlatcat gtttcatag tcttctlaat tctgtllcca alatttgaic catataattc 5760
tctatllltat aaagcaagaa aaaggtatat gaacactcaa atgaagattt tgggtgatat 5820
gttacaaaaa gcattllattt gatcagttatt tacttcaaca tttatlltca tcatcacta 5880
gaagaaagat tlaatttgtt atatcaacat cagtagtaca aatcttgtta tatcaaatga 5940
tgtlllttggg agttcagaat ccttcaacac tllaagcatt tgtattataa agtgccctcat 6000
tggtaaaaata atgagaattt gaagaaaacc agcccagcag aactaaaatt ttggtllttaa 6060
aggagataaa gagaataagt tlltcttact tgtcatctta atttgttttag glltctlltt 6120
atagagtaga ataaatgatg tltgtcttga ag 6152

<210> 7

<211> 2480

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

gacgctcigt gccctcggag gcttttcigc ctgcctgicc tcatgccctc cctccctctg 60
ctgctccigc tgccaagccc ctacacccc caccctatct gtgaggctc caaagtggcc 120
agccacctag aagigaactg tgacaagagg aatctgacag cgctgccicc agacctgccg 180
aaagacacaa ccaiccicca cctgagttag aacctccgt acaccttc cctggcaacc 240
ctgatgcctt acactgcct cactcagctg aacctagata ggtgcgagct caccaagctc 300
caggctcatg ggacgtgcc agtctgggg accctggatc tatccacaa tcagctgcaa 360
agcctgccct tcttagggca gacactgcct gctctaccg tctggagct ctcttcaac 420
cggctgacct cgctgccct tggctgccct cgctggctct gccaactcca agagctctac 480
ctgaaaggca atgagctgaa gacctgccc ccagggtcc tgacggccac acccaagctg 540
gagaagctca gctggctaa caacaactg actgagctcc ccgtgggct cctgaatggg 600
ctggagaatc tcgacacct tctctccaa gagaactgc tgtatacaat accaaagggc 660
tttttgggt cccacctct gccttttct tttctccag ggaacctct gttatgcaac 720
tgtgagatcc tctatcttc tgcctggctg caggacaatg ctgaaaatgt ctacgtatgg 780
aagcaaggct tggacgtcaa ggccatgacc tctaactgg ccagtgtgca gtgtgacaat 840
tcagacaagt tccccgtca caaatacca ggaaaggggt gccccacct tgggatgaa 900
ggtagacacag acctataga ttactacca gaagaggaca ctgaggcgga taaggctcgt 960
gccacaagga ctgtgtcaa gtccccacc aaagccata caacccctg gggctattc 1020
tactcatggt ccactgctc tctagacagc caaatgccct cctccttgca tccaacacaa 1080
gaatccacta aggagcagac cacattccca cctagatgga ccccaattt cacacttcac 1140
atggaatcca tcacatttc caaaactcca aaatccacta ctgaaccaac cccaagcccg 1200
accacctcag agcccgiccc ggagcccgcc ccaacaatga ccacctgga gccactcca 1260

agcccgacca cccagagcc caccicagag cccgccccca gcccgaccac cccggagccc 1320
accccaatcc cgaccaicgc cacaagcccg accatcctgg tgtctgccac aagccigatc 1380
actccaaaaa gcacatitit aactaccaca aaaccglat cactcttaga atccaccaaa 1440
aaaaccaatcc ctgaactlga tcagccacca aagctccgtg gggctgctca agggcatttg 1500
gagagctcca gaaatgacc tttctccac cccgactit gctgccctct cccctgggc 1560
ttctatgct tgggtctct cttggctgtc ttggctctg tggctctcat cctgtgtgt 1620
agctgggttg ggcatgtga accacaggcc ctggactct gccaaaggct tgtctgacc 1680
acagccacac aaaccacaca ctggagctg cagaggggac ggcaagtac agtccccgg 1740
gcctggctgc tcttctctg aggttctgt cccactitcc gctccagct ctctctgtg 1800
gtacggccta atggccgtgt ggggctctta gtggcaggaa ggaggccct agctctgagt 1860
cagggtctg gtcaggacct gctgagcaca gtgagcatta ggtactctg ccacagctc 1920
tgagggtgg aggtttggg acctgagag aagagcctgt gggctctct attggaatct 1980
agtgggggt tggagggga aggaacacag ggtgatagg gaggggtct agttctttt 2040
tctgtatcag aagccctgt ttcacaacac aggcacacaa ttctagctcc agccaaagca 2100
gaagggttaa tgacatggac ttggcggggg gacaagacaa agctccgat gctgcatgg 2160
gcgtgtccag atctcacgt gaaccatit ggcagaatac agcatggtc ccacatgat 2220
ttatgcacag aagaaaatct ggaaagtat ttatcaggat gtgagcctc gtgtgtctg 2280
gatgttaca atatgggtg tttatitct ttttccctg tttagcatit tctagtittc 2340
ttatcaggat gtgagcctc gtgtgtctg gatgttaca atatgggtg tttatitct 2400
ttttccctg tttagcatit tctagtittc cactattat gtatattatc tgtataataa 2460
aaaataatit taggttggg 2480

57/67

<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> n stands for any base

<400> 8
gagtctacct gtttactatc aanaa 25

<210> 9
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> n stands for any base

<400> 9
gagtctacct gtttactatc aanga 25

<210> 10
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 10
accagtacta aagcaaatta aact 24

58/67

<210> 11
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<220>
<221> misc_feature
<222> (20)..(20)
<223> n stands for any base

<400> 11
gcagtttatt aagatgaggn cg

22

<210> 12
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(22)
<223> n stands for any base

<400> 12
ttgcagttta ttaagatgag gntg

24

<210> 13
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 13
ggigciccct gtcataaatt tga 23

<210> 14
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 14
cccttcagc ttcatgcagg 20

<210> 15
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 15
gtcttggtag cgtgcttca 19

<210> 16
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<220>
<221> misc_feature
<222> (16)..(16)
<223> n stands for any base

<400> 16
tctgcggcat cacgtncg 18

<210> 17
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<220>
<221> misc_feature
<222> (16)..(16)
<223> n stands for any base

<400> 17
tcigcggcat cacgintg 18

<210> 18
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 18
gaatagtagg cggccactga 20

<210> 19
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(19)
<223> n stands for any base

<400> 19
tctacatggc cctgtcttng t

21

<210> 20
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<220>
<221> misc_feature
<222> (20)..(20)
<223> n stands for any base

<400> 20
ctctacatgg ccctgtcttn at

22

<210> 21
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 21
ctctacatgg ccctgtcttt at

22

<210> 22
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<220>
<221> misc_feature

62/67

<222> (17)..(17)

<223> n stands for any base

<400> 22

ccccatccic cctgcincg

19

<210> 23

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> n stands for any base

<400> 23

ccccatccic cctgcinig

19

<210> 24

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 24

agtcagtggc ccagaagacc

20

<210> 25

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<220>
<221> misc_feature
<222> (16)..(16)
<223> n stands for any base

<400> 25
gggccctgca cctccngg

18

<210> 26
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<220>
<221> misc_feature
<222> (16)..(16)
<223> n stands for any base

<400> 26
gggccctgca cctccnag

18

<210> 27
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 27
gggtaggcct gcaaatgcta

20

<210> 28
<211> 16
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

64/67

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<220>

<221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> n stands for any base

<400> 28

cccagggtc ctgncg

16

<210> 29

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<220>

<221> misc_feature

<222> (15)..(15)

<223> n stands for any base

<400> 29

ccccagggt cctgntg

17

<210> 30

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 30

tgagcttc cagcttggg g

21

<210> 31

65/67

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Probe

<400> 31

cagcttcaig cagggtaca

20

<210> 32

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Probe

<400> 32

cagcttcaig cagggtaca

20

<210> 33

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Probe

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> n stands for any base

<400> 33

acatggccct gtcttngtta ag

22

<210> 34

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

66/67

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Probe

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> n stands for any base

<400> 34

acaatggccct gtcitnattt ag

22

<210> 35

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Probe

<220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> n stands for any base

<400> 35

cacctcngg ggctgctag

19

<210> 36

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Probe

<220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> n stands for any base

67/67

<400> 36

cacciccag ggctgctag

19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/12052

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/09, C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/09, C12Q1/68

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

GeneBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, CA/BIOSIS/WPIDS/MEDLINE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Hartmut Kroll et al., "The Impact of the Glyco protein Ia Collagen Receptor Subunit A ₁₆₄₈ G Gene Polymorphism on Coronary Artery Disease and Acute Myocardial Infraction", Thromb. Haemostasis, 2000, Vol.83(3), pages 392 to 396, Full text	1, 3, 5, 7
Y	WO 01/62796 A1 (SMITHKLINE BEECHAM P.L.C.), 30 August, 2001 (30.08.01), Claims; examples & EP 1259546 A1 & JP 2003-523763 A	1, 3, 5, 7
Y	WO 97/43442 A1 (BASK AG.), 20 November, 1997 (20.11.97), Claims; examples & EP 939833 A1 & JP 2000-509990 A & DE 19619362 A & US 6242181 B1	1, 3, 5, 7

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T"

later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&"

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
09 December, 2003 (09.12.03)Date of mailing of the international search report
24 December, 2003 (24.12.03)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/12052

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 00/15785 A1 (SIEFFERT, Winfried), 23 March, 2000 (23.03.00), Claims; examples & EP 1112362 A1 & JP 2002-525051 A & US 2002/86297 A1	1,3,5,7
Y	Nicolas von Beckerath et al., "G Protein $\beta 3$ subunit polymorphism and risk of Thrombosis and restenosis following coronary stent placement", Atherosclerosis, 2000, Vol.149, pages 151 to 155, Full text	1,3,5,7
Y	Juliano C. Padovani et al., "Gene Polymorphisms in the TNF Locus and the Risk of Myocardial Infraction", Thrombosis Research, 2000, Vol.100, pages 263 to 269, Full text	2,4,6,8
Y	WO 94/29345 A1 (NOVO NORDISK A/S), 22 December, 1994 (22.12.94), Claims; examples & EP 711309 A1 & US 5827730 A	2,4,6,8
Y	Douglas H. et al., "Platelet membrane glycoprotein Ib α gene-5T/C Kozak sequence polymorphism as an independent risk factor for the occurrence of coronary thrombosis", Heart, 2002, Vol.87(1), pages 70 to 74; Full text	2,4,6,8
Y	WO 01/75065 A1 (GENAISSANCE PHARMACEUTICALS, INC.), 11 October, 2001 (11.10.01), Claims; examples & AU 200153091 A	2,4,6,8
P,A	Tester F. Ashavaid et al., "Gene Polymorphism and coronary Risk Factor in Indian Population", Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2002, Vol.40(10), pages 975 to 985; Full text	1,3,5,7

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12N15/09, C12Q1/68

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12N15/09, C12Q1/68

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

GeneBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq
CA/BIOSIS/WPIDS/MEDLINE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	Hartmut Kroll et al. "The Impact of the Glycoprotein Ia Collagen Receptor Subunit A1648G Gene Polymorphism on Coronary Artery Disease and Acute Myocardial Infraction" Thromb. Haemostasis, 2000, Vol. 83(3), p. 392-396, 文献全体参照	1, 3, 5, 7
Y	WO 01/62796 A1, (SMITHKLINE BEECHAM P.L.C.) 2001.08.30, 特許請求の範囲、実施例等参照, & EP 1259546 A1 & JP 2003-523763 A	1, 3, 5, 7
Y	WO 97/43442 A1, (BASK AKTIENGESELLSCHAFT) 1997.11.20, 特許請求の範囲、実施例等参照, & EP 939833 A1 & JP 2000-509990 A & DE 19619362 A & US 6242181 B1	1, 3, 5, 7

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

09.12.03

国際調査報告の発送日

24.12.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

坂崎 恵美子

4 N

9451

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO 00/15785 A1, (SIFFERT, Winfried) 2000.03.23, 特許請求の範囲、実施例等参照, & EP 1112362 A1 & JP 2002-525051 A & US 2002/86297 A1	1, 3, 5, 7
Y	Nicolas von Beckerath et al. "G Protein β 3 subunit polymorphism and risk of Thrombosis and restenosis following coronary stent placement" Atherosclerosis, 2000, Vol.149, p.151-155, 文献全体参照	1, 3, 5, 7
Y	Juliano C. Padovani et al. "Gene Polymorphisms in the TNF Locus and the Risk of Myocardial Infraction" Thrombosis Research, 2000, Vol.100, p.263-269, 文献全体参照	2, 4, 6, 8
Y	WO 94/29345 A1, (NOVO NORDISK A/S) 1994.12.22, 特許請求の範囲、実施例等参照, & EP 711309 A1 & US 5827730 A	2, 4, 6, 8
Y	Douglas H. et al. "Platelet membrane glycoprotein Ib α gene -5T/C Kozak sequence polymorphism as an independent risk factor for the occurrence of coronary thrombosis" Heart, 2002, Vol.87(1), p.70-74, 文献全体参照	2, 4, 6, 8
Y	WO 01/75065 A1, (GENAISSANCE PHARMACEUTICALS, INC.) 2001.10.11, 特許請求の範囲、実施例等参照, & AU 200153091 A	2, 4, 6, 8
P, A	Tester F. Ashavaid et al. "Gene Polymorphism and coronary Risk Factor in Indian Population" Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2002, Vol.40(10), p.975- 985, 文献全体参照	1, 3, 5, 7